UNIVERSITE DE STRASBOURG FACULTÉ DE PHARMACIE

ANNÉE SCOLAIRE 1940-1941 N° 274

Contribution à l'Étude de la Colchicine et de la Ricine

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le 12 MAI 1941
à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg
pour obtenir le grade de Docteur de l'Université
(Mention Pharmacie)

par

Salama Dimitrious YOUSSEF

Pharmacien

Examinateurs de la Thèse : M. A. SARTORY, Doyen, Président
M. P. CORDIER, Professeur
Mme S. LALLEMAND, Agrégée } Juges

CLERMONT-FERRAND
IMPRIMERIE GÉNÉRALE, 2, COURS SABLON

1941

UNIVERSITE DE STRASBOURG FACULTE DE PHARMACIE

ANNÉE SCOLAIRE 1940-1941 N° 274

Contribution à l'Étude de la Colchicine et de la Ricine

THÈSE

12 MAI 1941

présentée et soutenue publiquement le
à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg
pour obtenir le grade de Docteur de l'Université
(Mention Pharmacie)

par

Salama Dimitrious YOUSSEF
Pharmacien

Examinateurs de la Thèse : M. A. SARTORY, Doyen, Président ; M. P. CORDIER, Professeur ; Mme S. LALLEMAND, Agrégée — Juges

CLERMONT-FERRAND
IMPRIMERIE GÉNÉRALE, 2, COURS SABLON

1941

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

FACULTÉ DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. A. SARTORY, *Doyen*, C. ❋, I. ✪, C. ❀
VOLMAR, *Assesseur*, I. ✪.
MARANDON, *Secrétaire*, ❋ ⚗, ❀, ✪.

DOYEN HONORAIRE

M. JADIN, O. ❋, I. ✪, ❀.

PROFESSEURS

MM.	A. SARTORY, C. ❋, I. ✪, C. ❀	Bactériologie.
	LAVIALLE, ❋, I. ✪, ❀	Botanique
	VOLMAR, I. ✪	Chimie organique.
	GUILLAUME, ❋, ⚗, I. ✪, ❀	Pharmacie galénique.
	LAPP, I. ✪	Chimie analytique.
	CORDIER, ✪	Pharmacie chimique.
	R. SARTORY, ✪, ❀	Matière médicale.

MAITRE DE CONFÉRENCE

M.	DUQUENOIS	Toxicologie.

PROFESSEUR HONORAIRE

M. JADIN, O. ❋, I. ✪, ❀.

COURS COMPLÉMENTAIRES

MM.	A. SARTORY	Hygiène.
	LAVIALLE	Hydrologie.
	VOLMAR	Chimie minérale.
	GUILLAUME	Zoologie
	LAPP	Physique
	PRÉLOT	Législation et Déontologie.
	CORDIER	Chimie biologique.
	R. SARTORY	Cryptogamie.
	Mme LALLEMAND, ✪	Pharmacodynamie

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

MM.	COLLARD, ⚗, I. ✪	Chimie pharmaceutique.
	Mme LALLEMAND, ✪	Chimie et Physique.
	LEDOUX	Bactériologie et Parasitologie
	JÆGER	Histoire naturelle.

UNIVERSITÉ DE CLERMONT

ECOLE DE PLEIN EXERCICE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

PROFESSEURS DE PHARMACIE

DIRECTEUR :

M. J. CASTAIGNE, C. ✻, I. ✪ .... Membre associé national de l'Académie de Médecine.

PROFESSEURS :

MM. L. BERT, I. ✪. ..... Chimie biologique.
Mme L. BLANQUET, ✻, I. ✪. ..... Physique.
MM. P. FEBVRE, ✪. ..... Pharmacie galénique
J.-B. FOURNIER, I. ✪. ..... Matière médicale.
M. D. GAUTHIER, I. ✪. ..... Chimie.
M. LEVADOUX, O. ✻, I. ✪. .. Hydrologie.
P. MORNAC, I. ✪..... Bactériologie et hygiène.
R. VAURS, ✪..... Histoire naturelle. Parasitologie.

PROFESSEUR SUPPLÉANT

M. G. DASTUGUE..... Physiologie

SECRÉTAIRE

M. G. CUVIER, I. ✪.

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE,

Dont le souvenir me restera toujours fidèle et dont la vie me sera un exemple.

A MA MÈRE

Reconnaissance et affection filiale qui dépassent toutes nos paroles.

A MES SŒURS ET A MON FRÈRE

Avec l'expression de ma grande affection.

A TOUTE MA FAMILLE

A TOUS CEUX QUI ME SONT CHERS

En gage de ma reconnaissance, d'une amitié profonde et durable.

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE :

MONSIEUR LE PROFESSEUR SARTORY

DOYEN DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE STRASBOURG
PROFESSEUR DE BACTÉRIOLOGIE
A LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE L'UNIVERSITÉ
DE STRASBOURG
COMMANDEUR DE LA LÉGION D'HONNEUR

Hommage et vive admiration.
Respectueuse gratitude.

A MES JUGES :

MONSIEUR LE PROFESSEUR P. CORDIER

PROFESSEUR DE PHARMACIE CHIMIQUE
A LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE STRASBOURG

Faible hommage de ma respectueuse reconnaissance.

MADAME LALLEMAND

AGRÉGÉE
CHEF DE TRAVAUX
A LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE STRASBOURG
CHARGÉ DE COURS DE PHARMACODYNAMIE

Mes sentiments de profonde gratitude pour l'aide précieuse qu'elle m'a si aimablement apportée dans le choix et les directives de ce travail.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR P. ANCEL

DIRECTEUR DE L'INSTITUT D'EMBRYOLOGIE
DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE STRASBOURG
CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

A MES MAITRES DE LA FACULTE DE PHARMACIE
DE STRASBOURG

A MES MAITRES DE L'ECOLE DE MEDECINE
ET DE PHARMACIE DE CLERMONT-FERRAND

En témoignage de notre respectueuse reconnaissance.

INTRODUCTION

A la suite des travaux qui avaient permis à Mme Lallemand de réaliser des monstres strophosomes à l'aide de la colchicine chez l'embryon de Poulet, la question s'est posée de savoir à quoi était due cette puissance tératogène. Gilbert Ancel a tout d'abord recherché si la strophosomie pouvait être obtenue par des substances chimiques autres que la colchicine et il a expérimenté l'action de la trypaflavine, de l'arséniate de sodium et de l'hydrate de chloral. « Pour savoir, dit l'auteur, s'il existait une relation entre le pouvoir caryoclasique et la production de la strophosomie, j'ai tout d'abord choisi un représentant de chacun des deux types de poisons caryoclasiques décrits par Dustin en vue d'une comparaison entre leur action tératogène et celle de la colchicine. Parmi les corps caryoclasiques, j'en ai encore choisi un autre, le chloral dont l'action sur les cellules, comparée à celle de la colchicine a été étudiée par divers auteurs. » Aucun des trois corps étudiés par G. Ancel n'a donné naissance à des monstres strophosomes.

L'hypothèse a ensuite été faite que la colchicine devait son action au noyau phénanthrène et Aziz Awad a étudié l'action tératogène de trois substances renfermant dans leur formule le noyau phénanthrène : l'ouabaïne, la thébaïne et la boldine et celle du phénanthrène lui-même. Aucun strophosome n'est apparu au cours de ces expériences.

M. le Professeur P. Ancel et Mme Lallemand ont étudié l'action de nombreuses substances chimiques en se plaçant comme les précédents auteurs dans les conditions expérimentales réalisées par Mme Lallemand. Ces auteurs ont actuellement mis en expérience une cinquantaine de substances appartenant à divers groupes chimiques : alcaloïdes, glucosides, amides, amines, matières colorantes artificielles, composés organo-minéraux, sels minéraux, toxines animales et végétales, hormones, carbures, etc... Parmi toutes ces substances, une seule a donné naissance à des strophosomes : la ricine. Mme Lallemand m'a proposé de rechercher quelles pouvaient être les autres propriétés communes à la ricine et à la colchicine dans le but d'éclairer la question déjà étudiée par G. Ancel et Aziz Awad : à quelle propriété générale sur les cellules ou à quel groupement chimique particulier est due la puissance tératogène strophosomique de la colchicine.

Dans une première partie de ce travail, je définirai la strophosomie et rappellerai les résultats obtenus par Mme Lallemand et P. Ancel à l'aide de la colchicine et de la ricine. Dans une deuxième partie, je décrirai les formules et les propriétés chimiques de ces deux corps. Une troisième partie sera consacrée à leur étude pharmacodynamique et dans une quatrième, j'établirai entre eux une comparaison, suivie des conclusions générales qui me paraissent susceptibles d'être tirées de mes recherches.

Avant d'aborder le détail de nos recherches, qu'il nous soit permis d'adresser à Monsieur le Professeur Sartory, Doyen de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg, l'expression de notre très vive et respectueuse reconnaissance pour avoir bien voulu accepter la présidence de notre Jury de thèse.

Nous adressons ici à notre maître, Madame S. Lallemand, notre reconnaissance, nos sentiments de respectueuse et profonde gratitude pour son amabilité à nous accueillir dans son laboratoire, à nous inspirer le sujet de cette thèse et à nous prodiguer, avec sa bienveillance habituelle, ses conseils grâce auxquels nous avons pu mener à bien cette étude. Qu'elle soit assurée que nous réserverons avec gratitude le souvenir de son enseignement autorisé et que nous n'oublierons jamais la cordiale sympathie dont elle nous a entouré.

Nous remercions très sincèrement Monsieur le Professeur Cordier qui a bien voulu faire partie de notre jury de thèse.

Que Monsieur le Professeur P. Ancel, Directeur de l'Institut d'Embryologie de la Faculté de Médecine de Strasbourg, veuille bien accepter nos plus sincères remerciements pour l'accueil qu'il nous a toujours réservé dans son laboratoire, et pour l'aide éclairée de son expérience qu'il a toujours mise à notre disposition en nous facilitant la recherche d'une documentation précieuse.

Nous adressons aussi nos meilleurs remerciements à Mademoiselle Dubail, pharmacien, assistante à l'Institut d'embryologie, pour l'aide qu'elle a bien voulu nous apporter dans la réalisation des microphotographies.

Nous remercions infiniment nos camarades Français pour l'amitié et les témoignages de fraternité qui nous ont unis sur cette terre de France hospitalière. Qu'ils soient sûrs de trouver auprès de nous, en Egypte, l'accueil le plus sincère et le plus cordial.

PREMIERE PARTIE

REALISATION DE LA STROPHOSOMIE PAR LA COLCHICINE ET LA RICINE CHEZ L'EMBRYON DE POULET

La strophosomie est une monstruosité qui n'a été signalée à l'état spontané que chez les Bovidés. Guril en 1832 en a rapporté 13 cas qu'il avait trouvés dans la littérature ; il dénommait cette monstruosité Schistosomus reflexus, Jolly l'appelle plus tard Chélonisomie, Schwalbe la nomme Schizosoma reflexum. Lesbre en 1927 a proposé le nom de strophosomie qui est celui que Mme Lallemand a adopté.

Les monstres strophosomes de Bovidés ou de Poulet présentent une courbure de la partie postérieure du corps telle que le bassin est rejeté sur le dos et les membres inférieurs appliqués sur la nuque. Les parois ventrales du corps fortement éversées sont au cours du développement recourbées vers la ligne médio-dorsale. il s'ensuit que leur face intérieure tapissée par le péritoine est devenue extérieure. Ces parois du corps forment avec l'amnios qui les prolonge un sac renfermant l'embryon à l'exclusion de tous les organes qui sont herniés. L'éversion des parois du corps a, en effet, pour résultat la réalisation d'une éventration portant sur le thorax, l'abdomen et le bassin dont tous les organes sont ainsi mis à nu. Le corps des strophosomes a en somme la forme d'un S dont la partie inférieure est recourbée en arrière sur la

partie moyenne d'où le nom de strophosomes (corps retourné) qui leur a été donné.

La technique utilisée par Mme Lallemand et P. Ancel dans leurs recherches sur l'action tératogène des substances chimiques est essentiellement la suivante : une fenêtre ronde de 1 cm 5 de diamètre est découpée dans la coquille d'un œuf ayant subi une incubation de quarante-huit heures. Si l'embryon est normalement développé, c'est-à-dire s'il a de 25 à 27 somites, et aucune anomalie de la forme, on dépose sur lui une goutte de la substance à expérimenter avec une pipette débitant 20 gouttes au centimètre cube, puis on ferme la fenêtre de la coquille avec une lamelle de verre lutée à la paraffine.

L'œuf est remis à la couveuse. On suit son développement.

CHAPITRE Ier

REALISATION DE LA STROPHOSOMIE A L'AIDE DE LA COLCHICINE

La colchicine a été dissoute dans une solution de chlorure de sodium à 8 p. 1000.

Au stade de 48 heures où a été fait le dépôt de la colchicine sur l'embryon, celui-ci est bien développé ; sa moitié antérieure est couchée sur le côté gauche tandis que dans sa moitié postérieure la face dorsale est encore supérieure. Le mouvement de torsion qui couche l'embryon sur le côté gauche n'est donc réalisé que dans la moitié antérieure. A l'union des deux parties antérieure et postérieure, le corps présente alors une lordose sous-cardiaque légère qui disparaîtra au fur et à mesure que se complètera le mouvement qui couche l'embryon sur le côté gauche. La moitié postérieure du corps est rectiligne, les ébauches des membres ne sont pas encore apparues, le cœur bat, l'aire vasculaire est bien développée, la circulation sanguine est active.

Cinq heures après l'injection de colchicine, on constate chez certains embryons que la légère lordose sous-cardiaque au lieu de tendre à s'effacer a, au contraire, très fortement augmenté. Elle peut devenir telle que les deux segments du corps qui la constituent arrivent au contact l'un de l'autre.

La partie postérieure du corps située au-dessous de cette lordose est droite. Chez certains embryons, elle se coudera à son tour pour former une cyphose tandis que chez d'autres, elle restera incorporée dans la lordose dont le sommet s'abaisse vers un point situé un peu au-dessus de l'origine des membres inférieurs. Chez les uns comme chez les autres, il peut exister, en outre, une scoliose plus ou moins accentuée.

Ces courbures anormales ne sont nullement spécifiques de la strophosomie, de jeunes embryons arrivés à la 18e heure de l'incubation peuvent les présenter spontanément en dehors de toute intervention et on peut, d'autre part, après action de divers facteurs tératogéniques, obte-

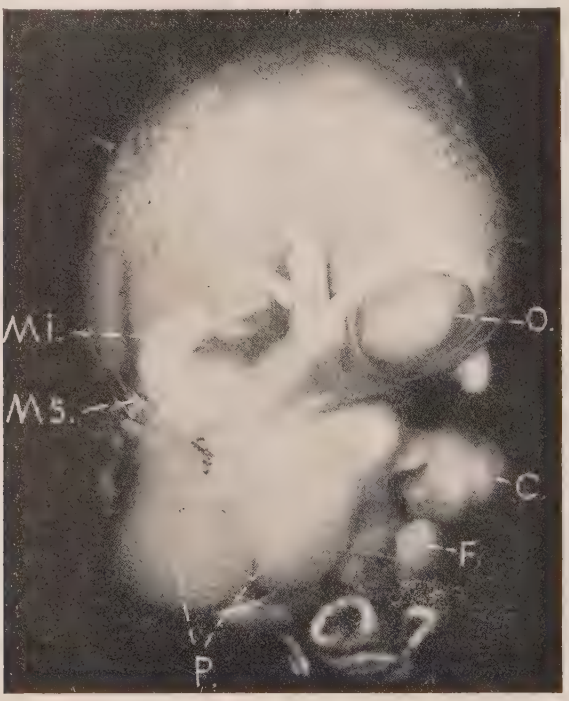


Fig. 1. — Photographie d'un strophosome âgé de neuf jours, obtenu à l'aide de la colchicine. Vue latérale droite. D'après Mme S. Lallemand. L'amnios n'a pas été enlevée, la célosomie est totale. Tous les organes sont à nu. C = Cœur; F = Foie au-dessus duquel se trouvent les anses intestinales; P = parois du corps éversées dont la face intérieure qui recouvre normalement les organes est ici extérieure. Cette paroi se continue vers la tête par l'amnios au travers de laquelle on voit la tête et les membres supérieurs (M s) et inférieurs (M i) droits rejetés sur elle. Le membre supérieur est retourné et montre sa face palmaire; le premier doigt est, en effet, externe par rapport aux autres, tandis qu'il serait interne si l'extrémité libre de l'aile s'était simplement déplacée vers la tête, sa face dorsale serait alors extérieure comme chez les témoins. G X 4,2.

nir des embryons lordosiques sans qu'ils deviennent ultérieurement strophosomes.

A la 65e heure de l'incubation, on voit chez les embryons normaux témoins l'extrémité caudale s'incurver sous le

ventre. Ce bourgeon caudal s'incurve de la même manière chez certains embryons lordosiques, tandis que cette incurvation fait défaut chez d'autres.

Fig. 2. — Photographie d'un strophosome âgé de treize jours obtenu à l'aide de la colchicine. Vue postérieure. D'après Mme S. Lallemand. P = face intérieure des parois du corps éversées. Elles se terminent vers le haut suivant une ligne horizontale (X.-X.); le long de laquelle était insérée l'amnios, qui a été enlevée pour montrer à nu les deux membres inférieurs (M i) rejetés sur la nuque et au contact l'un de l'autre. La tête étant un peu inclinée latéralement, on aperçoit l'œil droit (O). La célosomie est complète, on voit le gésier (G), sur lequel se trouvent les anses intestinales. Le rectum (R) est à nu ainsi que le cloaque (Cl). Ces organes sont dans le plan sagital médian, de part et d'autre duquel s'allongent les membres inférieurs. Les membres supérieurs placés latéralement par rapport aux inférieurs ne sont pas visibles. G X 3,4.

Vingt-quatre heures après l'injection (soixante-douzième heure de l'incubation), on peut diviser les embryons en quatre catégories. 1° Les morts dont la plupart sont for-

lement lordosiques ; 2° des embryons lordosiques dont l'extrémité caudale est renflée en moignon et paraît même plus ou moins nettement recourbée sur le dos ; 3° Des embryons lordosiques dont l'extrémité caudale est recourbée sous le ventre ; 4° des embryons normaux.

Si l'on suit l'évolution des embryons lordosiques, on constate que ceux de la deuxième catégorie donnent en général naissance à des strophosomes et ceux de la troisième à des célosomiens.

L'absence d'incurvation de l'extrémité caudale vers le ventre chez les embryons lordosiques à la 65e heure de l'incubation permet de faire un diagnostic très précoce de la strophosomie, mais c'est un diagnostic qui n'est pas absolument sûr, il est en effet possible mais rare que certains de ces embryons deviennent seulement célosomiens.

Le diagnostic ne peut être assuré qu'après incurvation de l'extrémité caudale sur le dos. Il nous paraît difficile à établir sur le vivant avant la 78e heure. Les coupes montrent que cette incurvation peut cependant être réalisée plus tôt.

On voit au stade d'injection, le tube nerveux et la chorde qui viennent se terminer dans le renflement caudal ; en arrière de celui-ci, l'ectoderme et l'entoderme entrent en contact pour former la membrane cloacale.

A la 72e heure de l'incubation, toute la partie caudale de l'embryon s'est incurvée sous le ventre, la partie terminale du tube nerveux et de la chorde sont coudés, l'intestin forme un petit diverticule derrière le renflement caudal ; c'est l'intestin caudal. Dans ce mouvement, la membrane cloacale a été ramenée en avant et ventralement, sa situation, par comparaison avec celle qu'elle occupait à la 48e heure rend bien compte du mouvement qui s'est exécuté. L'allantoïde est nettement reconnaissable en avant de la membrane cloacale, elle a une situation ventrale. Le capuchon caudal de l'amnios est constitué.

La partie caudale d'un embryon strophosome à la même heure de l'incubation présente une organisation toute différente. Le tube nerveux et la chorde sont incurvés, mais en sens inverse de la normale, leurs parties terminales et le renflement caudal sont situés dorsalement. La membrane cloacale se reconnaît sur le dos de ce renflement et l'intestin enveloppe la partie caudale incurvée ; il pousse caudalement un petit diverticule qui est l'ébauche de l'allantoïde, celle-ci est donc caudale dès l'origine et non plus ventrale. Le capuchon caudal de l'amnios est constitué.

Au stade de 96 heures, les embryons normaux ont la

forme générale d'un C. La tête et le corps sont couchés sur le côté gauche et la tête et la queue sont repliées vers le ventre. L'allantoïde est, elle aussi, ventrale mais fait saillie du côté droit de l'embryon qui est dirigé vers le haut.

Les futurs célosomiens sont semblables aux embryons normaux par la partie supérieure du corps, mais ils ont une lordose sous-cardiaque plus ou moins accentuée qui entraîne une modification de la direction des membres supérieurs. Ceux-ci se dirigent ventralement chez les embryons normaux, tandis que chez les lordosiques, ils se dirigent latéralement ou même dorsalement. L'extrémité inférieure est coudée vers le ventre et l'allantoïde est ventrale comme chez les embryons normaux.

Chez les futurs strophosomes, il existe aussi une lordose sous-cardiaque avec rejet vers le dos des membres supérieurs ; l'allantoïde est caudale, les ébauches des membres inférieurs relevées ainsi dorsalement reposent sur cette allantoïde ainsi que le bourgeon caudal rectiligne ou relevé lui aussi dorsalement.

A ce moment, le caractère spécifique de la strophosomie (incurvation sur le dos de la partie caudale de l'embryon) saute aux yeux et aucune erreur de diagnostic ne peut plus être commise.

Au 5e jour de l'incubation, l'embryon strophosome a la forme d'un S. Ses quatre membres sont de petits bourgeons qui convergent vers le dos, les extrémités libres des membres supérieurs peuvent arriver au contact des extrémités libres des membres inférieurs. La célosomie thoraco-abdominale est complète, tandis que chez les témoins les parois ventrales sont complètement formées et l'ombilic de dimensions relativement restreintes.

Au 6e jour de l'incubation, les quatre membres convergent vers la ligne médiane dorsale. La paroi thoraco-abdominale s'est développée, mais, au lieu de se diriger vers la ligne médiane ventrale et de rétrécir ainsi l'ombilic, cette paroi se développe vers la ligne médio-dorsale, elle est complètement éversée et prolongée par l'amnios qui enveloppe la tête et les membres tandis que tous les organes du thorax, de l'abdomen et du bassin sont à nu.

Au 8e jour, les membres inférieurs au contact sont dirigés dorsalement. A partir du 9e jour, leurs extrémités libres atteignent la nuque, ces extrémités sont au contact l'une de l'autre dans la majorité des cas, les membres supérieurs retournés ont leurs extrémités libres situées latéralement par rapport à celles des membres inférieurs ; la monstruosité est définitivement constituée.

CHAPITRE II

REALISATION DE LA STROPHOSOMIE A L'AIDE DE LA RICINE

P. Ancel et Mme Lallemand ont résumé comme suit l'exposé de leurs résultats : « Nos expériences ont été faites sur l'embryon de Poulet au stade de 48 heures. La ricine a été dissoute dans le chlorure de sodium à 8 p. 1000, la dose a varié de 0,01 mg à 0,00001 mg. A la dose de 0,00025 mg et aux doses plus élevées, la ricine a tué tous les embryons (50 sur 50) avant la fin du 5e jour de l'incubation, la plupart succombant dans le courant du 4e jour ; presque tous ces embryons présentent une très forte lordose sous-cardiaque et chez les plus âgés, on peut constater l'existence d'une célosomie totale. A la dose de 0,0001 mg sur 52 œufs, 22 sont morts avant le début du sixième jour, dont 10 fortement lordosiques présentaient une célosomie totale, les 30 autres embryons sont morts entre le sixième et le douzième jour de l'incubation. Dix présentaient les caractères typiques des strophosomes (forte lordose sous-cardiaque, célosomie totale, rejet des membres supérieurs et inférieurs sur le dos). En somme, 20 embryons sur 52 étaient tout à fait identiques aux embryons strophosomes obtenus avec la colchicine, soit 38,4 p. 100. La dose de 0,00005 mg expérimentée sur 56 œufs a donné 20 morts avant le début du sixième jour : six de ces embryons avaient bien les caractères des jeunes strophosomes. Parmi les embryons morts après le sixième jour, un seul mort à 7 jours était strophosome. Le nombre total des strophosomes était donc de 7 sur 56, soit 12,5 p. 100. La dose de 0,00001 mg a été essayée

sur 20 œufs ; elle n'a amené l'apparition d'aucun strophosome.

Dans toutes ces expériences faites à l'aide de la ricine, aucun des embryons strophosomes n'a dépassé le septième jour de l'incubation, tandis que nous avons obtenu avec la colchicine, des strophosomes âgés de 20 jours. Ce fait nous paraît dû à ce que la ricine lèse plus fortement le sang que la colchicine. La différence de sensibilité entre le sang et la région embryonnaire dont la lésion détermine la strophosomie serait plus marquée pour la colchicine que pour la ricine.

Dans des recherches ultérieures non encore publiées, P. Ancel et Mme Lallemand ont obtenu des strophosomes qui ne sont morts que dans la deuxième moitié de l'incubation.

Fig. 3. — Strophosome âgé de neuf jours, obtenu à l'aide de la ricine. Vue latérale droite. Célosomie totale due à l'éversion des parois thoraco-abdominales. Les membres supérieurs et inférieurs sont rejetés sur le dos. Les membres inférieurs sont au contact l'un de l'autre. Les caractères de la monstruosité sont exactement les mêmes que dans le cas des strophosomes du même âge obtenus avec la colchicine. C = Cœur; F = Foie; M = Mesonephros; P = Paroi thoraco-abdominale éversée; S = Membre supérieur droit; I = Membre inférieur droit; B = Bourgeon caudal; i = intestin. G X 4,5.

DEUXIEME PARTIE

ÉTUDE CHIMIQUE

Nous étudierons successivement la colchicine puis la ricine.

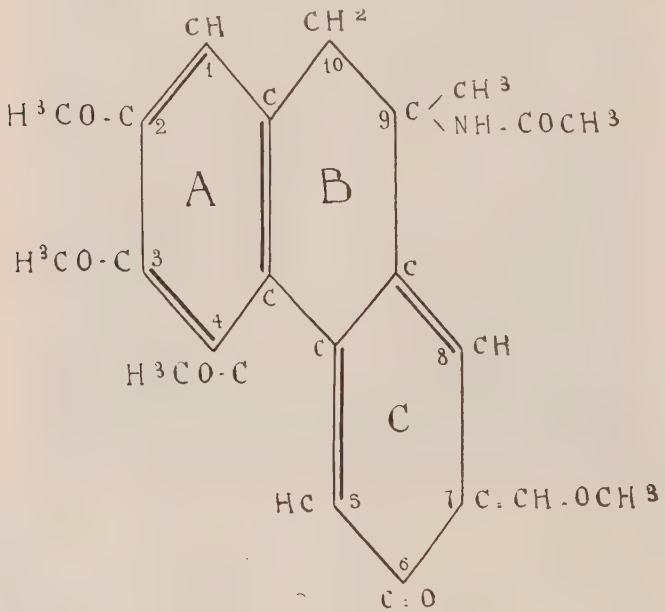
CHAPITRE Ier

COLCHICINE

Nous résumerons succinctement les principaux faits connus relatifs à la constitution de ce corps, à sa préparation, à ses propriétés.

A. — Constitution.

Les recherches de Zeisel, puis celles de Windaus en 1924 ont conduit à attribuer à la colchicine les formules brute et développée suivantes :



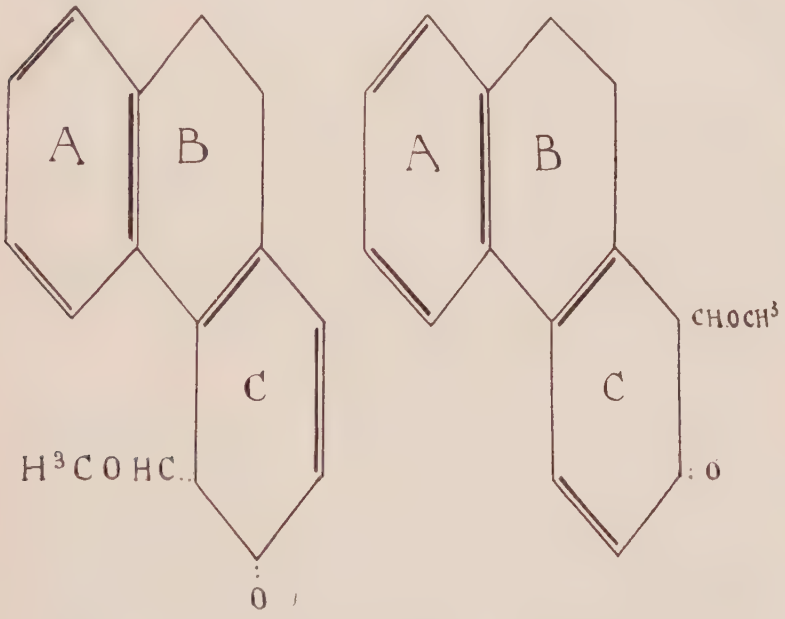
Colchicine

$C^{22}H^{25}O^{6}N$

L'étude des produits de dégradation de la colchicine montre que cet alcaloïde est un dérivé d'un 9 méthyl-phénanthrène partiellement hydraté. La nature et la place des constituants dans les noyaux A et B ont été déterminées avec certitude. Il n'en est pas de même du noyau C dont la constitution est encore douteuse.

Des élèves de Windaus, Bredenbeck en 1928, puis plus récemment, Bursian (1938) ont préparé de nombreux dérivés de la colchicine dans le but de préciser la constitution du noyau C.

D'après les dernières recherches de Bursian, il apparaît que cette constitution pourrait être l'une des deux suivantes :



A l'appui de cette constitution du noyau C vient s'ajouter le fait que la colchicine présente dans l'ultra-violet une forte absorption pour les grandes longueurs d'ondes, ce qui, fait remarquer Bursian, est en accord avec le système des doubles liaisons conjuguées. En effet, les dérivés de la colchicine ne possédant pas le système des doubles liaisons conjuguées mais dont le noyau C est tout simplement aromatique fournissent un spectre ne présentant pas de bandes d'absorption pour les grandes longueurs d'ondes.

La colchicine apparaît donc comme une substance dans laquelle le noyau phénanthrénique partiellement hydraté supporte quatre groupements méthoxy, une fonction amide, un système de doubles liaisons conjuguées.

B. — Préparation.

La colchicine est extraite des graines du Colchicum autumnale (Liliacée) qui généralement en renferment de 3 à 8 p. 1000. Perrot a signalé que la colchicine existe aussi dans une Liliacée du Sahara, l'Androcymbium gramineum ; les graines de cette plante en contiennent une proportion voisine de 4. p. 1000.

Isolée tout d'abord par Pelletier et Caventou en 1820, puis par Geiger et Hesse, la colchicine fut obtenue cristallisée pour la première fois par Houdé en 1884. Les procédés d'extraction sont assez nombreux. On évite les milieux aqueux alcalins ou acides, afin de ne pas provoquer la transformation de la colchicine en colchicéine par hydrolyse. La préparation habituellement suivie repose sur le principe suivant : l'alcool à 80 agissant sur les graines de colchique dissout la colchicine. Après distillation de l'alcool, la solution de colchicine restante est traitée par le chloroforme. Celui-ci enlève la colchicine. La solution chloroformique distillée abandonne la colchicine impure qui est ensuite purifiée à l'aide de divers précipitants.

L'extraction est conduite comme suit :

Les graines de colchique préalablement broyées au mortier et humidifiées légèrement sont introduites dans un extracteur en cuivre étamé ; elles sont épuisées par de l'alcool à 80°, renfermant 1,5 de tétrachlorure de carbone et bouillant. Après 5 ou 6 opérations d'une durée totale d'environ 6 heures, l'extraction est généralement terminée. L'extractum alcoolique est distillé pour récupérer l'alcool. Le liquide chaud restant est additionné de paraffine à PF 40-42° qui dissout et entraîne les matières grasses et résineuses. Après refroidissement, la paraffine forme un gâteau que l'on sépare. Le liquide restant est clarifié avec de la pâte à papier puis filtré.

La solution jaune limpide de colchicine est agitée avec du chloroforme à plusieurs reprises. Les solutions chloroformiques sont desséchées sur du carbonate de potassium, puis elles sont distillées. Le résidu est constitué par une combinaison de chloroforme et de colchicine de formule $C^{22}\ H^{25}\ O^{6}\ N\ +\ 2CHCL^{3}$. On ajoute son poids

d'alcool qui la dissout. On évapore presque à sec, il y a élimination partielle du chloroforme qui est entraîné par les vapeurs d'alcool ; on répète cette opération jusqu'à volatilisation totale du chloroforme. La colchicine est dissoute dans l'alcool ; on amorce la cristallisation avec un cristal de colchicine, et on ajoute un grand excès d'éther ou d'éther de pétrole (dans lesquels la colchicine est très peu soluble). On abandonne à la glacière 48 heures ; la colchicine cristallise. Elle est essorée puis séchée à 40°.

Cette colchicine brute est une poudre jaune fondant entre 135 et 145 degrés, le rendement étant voisin de 3 à 8 p. 1000 du poids de la drogue.

La colchicine parfaitement pure s'obtient après les manipulations suivantes : La colchicine est dissoute dans l'alcool ; on ajoute une solution aqueuse de tanin au 1/2 sans excès. Il se forme un précipité de tannate de colchicine que l'on essore, lave et sèche dans le vide. On le broye ensuite au mortier avec de la litharge en excès et un peu d'alcool. Le tanin passe à l'état de dérivé plombique, la colchicine est libérée. On l'extrait à chaud par l'alcool. On décolore la solution alcoolique par le noir animal. La solution filtrée est évaporée jusqu'à consistance sirupeuse et reprise par son poids d'alcool absolu. On verse cette solution dans dix fois son poids d'éther, la colchicine précipite. Elle est essorée, lavée à l'éther puis séchée dans le vide. Ainsi purifiée, elle fond à 145°.

La colchicine dont nous avons fait usage dans nos expériences était un produit pur livré par la firme Pointet et Girard.

C. — Propriétés.

Pure, la colchicine se présente sous forme d'une poudre cristalline blanc jaunâtre. Elle est assez soluble dans l'eau : une partie dans 70 d'eau à froid (pharmacopée helvétique). Elle est moins soluble dans l'eau chaude que dans l'eau froide. Elle est plus soluble dans l'alcool, 1 partie dans 2 parties d'alcool. Son dissolvant de choix est le chloroforme, 1 partie de colchicine se dissolvant dans 1 partie de chloroforme à 20°. Sa solubilité dans l'éther est faible, 1 partie de colchicine se dissout dans 160 parties d'éther à 20°.

— La colchicine est lévogyre α_D — 243°78 (dans l'alcool absolu).

Selon H. Schuhler, « le spectre ultra violet de la colchicine est assez différent des dérivés de la morphine ; on y retrouve la trace du phénanthrène d'une façon beaucoup plus marquée que dans ceux-ci. D'autre part, le spectre de la colchicine offre des analogies, d'aspect avec ceux de corps de constitutions chimiques assez différentes de la colchicine comme certains carbures cancérigènes, à noyau anthracénique ou pyrénique (méthylcholanthrène, benzopyrène, benzanthracène) ».

La colchicine est une base faible, n'étant pas une amine mais une amide. Sa solution aqueuse présente une légère alcalinité au tournesol. Les sels sont peu stables, fortement hydrolysés, ce qui explique que le chloroforme enlève l'alcaloïde à une solution acide d'un sel de colchicine. La colchicine donne des réactions colorées qui servent à l'identifier : l'acide azotique fumant donne une coloration violette, le perchlorure de fer une coloration verte à froid, rouge brun à chaud.

CHAPITRE II

RICINE

Nous envisagerons successivement sa constitution, son extraction, ses propriétés.

A. — Constitution.

La constitution chimique de la ricine est inconnue. Les préparations les plus pures de cette substance qui aient été obtenues jusqu'ici laissent présumer qu'elle serait de nature protidique ou peptidique. On la considère comme une toxalbumine. Les recherches de Karrer, Smirnoff, Ehrensperger, van Slooten et Keller ont, en effet, mis en évidence les faits suivants :

1) Si l'on soumet à une digestion trypsique une certaine quantité de ricine, on constate que protides et toxine sont détruits parallèlement ; si l'hydrolyse est interrompue après digestion de 65 % ou de 93 % du produit mis en œuvre, les parties non digérées ont la toxicité du matériel de départ.

On ignore si le groupement toxophore est de nature protidique, mais les faits précédents montrent qu'il est certainement lié aux protides.

2) La teneur en azote total de la ricine est environ de 18,6 %.

3) Les acides aminés auxquels les préparations de ricine sont combinées ont été déterminés qualitativement et quantitativement, ce sont :

Alanine, 1 %.	Cystine 1,0 %	Arginine, 11,7 %
Valine, 2,0 %	Proline 4,6	Lysine, 6,3
Leucine, 16,0	Acide aspartique 2,0	Peptide non dissocié, 2,0
Phénylalanine, 0,1	Acide glutamique 20,0	Acides aminés restant non identifiés, 3,3.
Tyrosine, 2,7	Tryptophane, 0,4	

soit au total 73,43 % d'acides aminés.

Les auteurs n'ont pas trouvé de glycocolle, de sérine, d'oxyproline, d'acide oxyglutamique, d'histidine.

4) Les différents échantillons de ricine pure renferment toujours une certaine proportion de cendres : 0,33 à 1 %.

5) Les auteurs ont cherché à déterminer les poids moléculaires de diverses préparations de ricine. Les acides aminés et les peptides à poids moléculaires élevés peuvent être titrés d'après Willstäter dans l'alcool à 97% ; par contre, les peptides seuls peuvent être dosés dans l'alcool à 40 % ; si donc les préparations de ricine ont des poids moléculaires différents, les titrations dans l'alcool à 97 % et dans l'alcool à 40 % doivent fournir des poids équivalents moyens différents. La solution de ricine est mise en contact avec une quantité connue de potasse, de l'alcool soit à 97 % soit à 40 %, puis on titre l'excès de potasse avec de l'acide chlorhydrique normal en présence de phénolphtaléine. On établit le poids équivalent moyen dans l'alcool à 40 % et dans l'alcool à 97 %.

Pour les diverses préparations de ricine examinées, les poids équivalents moyens dans l'alcool à 40 % oscillent autour de 2.000-2.300 et dans l'alcool à 97 % autour de 1000 à 1300. Ces résultats montrent que le rapport des acides aminés aux peptides est donc sensiblement voisin pour les différentes préparations de ricine. Les valeurs obtenues pour ces poids équivalents moyens sont remarquablement petites.

B. — Préparation.

La ricine a été isolée des graines de ricin par Stillmark en 1889. Elle a été identifiée par Agulhon dans 25 espèces ou variétés de semences de ricin. Cet auteur a observé que pour un même poids de graine, la quantité de toxine, mesurée par ses effets, est sensiblement identique dans

toutes les espèces. Pour Grabar et Koutseff, seuls l'amande et l'embryon renferment de la ricine, les téguments en sont dépourvus.

La ricine s'extrait soit à partir des graines de ricin décortiquées, broyées et déshuilées, soit à partir des tourteaux obtenus après extraction de l'huile de ricin. La ricine, comme les globulines, est extraite à l'aide d'une solution de chlorure de sodium ; elle est ensuite précipitée par le sulfate d'ammonium. Karrer et ses collaborateurs ont extrait 22 gr. de ricine d'un kg. de tourteau.

1) *Procédé Osborne, Mendel et Harris.* — Le mode opératoire préconisé par ces auteurs donne un produit très actif. Du tourteau de ricin réduit en poudre fine est mis à macérer pendant 24 heures dans une solution de chlorure de sodium à 10 %. On pratique ensuite la dialyse ; la plus grande partie des globulines se dépose pendant la dialyse, la ricine reste dissoute. On filtre, dans le filtrat on ajoute du sulfate d'ammonium à demi-saturation. Le précipité est redissous dans l'eau et dialysé jusqu'à disparition du sulfate d'ammonium. Les produits qui précipitent pendant la dialyse ne sont pas de la ricine. Pour purifier le produit, on effectue des précipitations répétées suivies de dialyse. Finalement, la ricine obtenue est desséchée dans le vide à basse température.

2) *Procédé Karrer, Smirnoff, Ehrensperger, van Slooten et Keller.* — Ces auteurs purifient la ricine brute, obtenue après précipitation par le sulfate d'ammonium, à l'aide des procédés d'adsorption et d'élution qui servent à isoler et à séparer des substances à poids moléculaires élevés. L'adsorbant de choix est le sulfate d'aluminium basique. On le verse dans une solution de ricine de 2 à 4 % ; on centrifuge la masse pendant une demi-heure, on prélève le précipité. L'élution est réalisée soit par de l'acide chlorhydrique très étendu ou de l'acide acétique dilué soit de préférence par du phosphate mono ou disodique à 5 ou 10 % ; puis on dialyse la solution jusqu'à disparition de l'acide ou du phosphate de sodium. On évapore ensuite la solution de ricine à une température ne dépassant pas 40 degrés. La solution de ricine brute est soumise à une deuxième, à une troisième, puis à une quatrième adsorption. Les auteurs ont ainsi obtenu un produit blanc, de toxicité constante, la dose minimum mortelle, administrée par voie intraveineuse étant de 0,004 à 0,005 mg. par kg. de lapin.

J'ai utilisé dans mes expériences de la ricine de diverses provenances. J'ai employé de la ricine pure Merck, et de la ricine que j'ai extraite de tourteaux de ricin mis gracieusement à ma disposition par l'Huilerie Nouvelle (Marseille).

J'ai cherché à extraire rapidement la ricine des tourteaux de ricin dans le but d'obtenir un produit actif ayant subi au minimum l'action des oxydations. Je me suis inspiré de recherches effectuées par Guerbet et Brioux sur l'identification de la ricine dans des tourteaux accidentellement ricinés et de celles de Grabar et Koutseff sur la préparation et la séparation de la ricine et du ricinallergène. J'ai traité les tourteaux de deux façons différentes.

a) Le tourteau de ricin (30 gr.) réduit en poudre fine est tamisé ; on enlève ainsi une grande partie des téguments de la graine qui ne se laisse pas réduire en poudre aussi fine que l'amande. On ajoute 150 gr. de solution de chlorure de sodium à 8 pour mille puis 5 cm3 de toluène pour éviter les fermentations. On laisse macérer 10 heures. On filtre. Le filtrat est chauffé une heure au bain-marie à 70°. Il se fait un précipité notable de protides. Après filtration, on mesure le volume de liquide restant et l'additionne de 50 % de son poids de sulfate d'ammonium. On agite jusqu'à dissolution complète. On laisse reposer 2 à 4 heures environ puis on filtre. Le précipité recueilli est lavé avec vingt gouttes d'eau bouillie. On le remet ensuite en solution dans la quantité minima de soluté physiologique. On laisse au repos quelques heures. On filtre si nécessaire, puis on traite à nouveau par 50 % de sulfate d'ammonium. On filtre, puis refait une troisième précipitation par le sulfate d'ammonium. Le précipité lavé avec 20 gouttes d'eau distillée bouillie est séché dans le vide sulfurique. J'ai ainsi obtenu 0,438 gr. d'un produit blanc grisâtre qui s'est montré actif sur l'embryon de Poulet et sur les racines d'*Allium cepa* comme en font foi les expériences décrites plus loin (quatrième partie).

b) 90 grammes de tourteau de ricin réduit en poudre fine et tamisé sont mis à macérer dans 450 gr. d'une solution de chlorure de sodium à 10 % ; on ajoute 15 cm3 de toluène et on abandonne 12 heures. On filtre, puis maintient le filtrat à une température de 55° au bain-marie pendant une heure. On filtre pour éliminer le coagulum formé. Les recherches de Grabar et Koutseff ayant

montré que la toxine précipite avec une concentration de sulfate d'ammonium de 33 %, j'ai additionné le filtrat du tiers de son poids de sulfate d'ammonium. Le précipité est lavé avec 2cm3 d'eau distillée bouillie, puis mis en solution dans la quantité minima d'une solution de chlorure de sodium à 5 %. Après une nouvelle précipitation par le sulfate d'ammonium, le produit lavé est desséché dans le vide sulfurique. On obtient un produit blanc grisâtre, toxique pour les cellules animales et végétales. La préparation *a* s'est montrée sensiblement plus active que la préparation *b* (voir à ce sujet la quatrième partie de ce travail).

C. — Propriétés.

La ricine pure se présente sous la forme d'une poudre blanche. Les auteurs diffèrent d'opinion sur ses propriétés physiques. En ce qui concerne sa solubilité, il semble établi que la ricine est soluble dans le soluté de chlorure de sodium à 8 p. 1000, dans les acides dilués comme l'acide chlorydrique et l'acide acétique, dans les solutions de phosphate de sodium à 10 % et même dans l'eau distillée. D'après M. Heymans, la ricine se dissout dans l'eau distillée ou dans la solution de chlorure de sodium à 8,5 pour 1.000 jusqu'à un taux de 0,5 pour 100. Le chiffre le plus élevé donné par Karrer et ses collaborateurs est de 4 pour 100. J'ai constaté que la ricine pure Merck était soluble dans le liquide de Knop dilué au demi à raison de 3 grammes pour 100. Le liquide de Knop renferme 0,41 gr. de sulfate de magnésium cristallisé, 0,8 gr. de nitrate de calcium, 0,2 gr. de nitrate de potassium et 0,2 gr. de phosphate monopotassique pour un litre d'eau distillée.

Les solutions concentrées de ricine sont légèrement opalescentes quel que soit le dissolvant utilisé, les solutions diluées (1 pour 1.000) sont claires.

La ricine est douée d'un pouvoir rotatoire lévogyre, α_D 18° - 40° à — 42°,5 (Karrer).

Les auteurs donnent différents résultats pour la température de coagulation. Pour Osborne, Mendel et Harris, la coagulation de la ricine se produit à 98° quand elle est dissoute dans une solution de chlorure de sodium à 5 %. D'après Grabar et Koutseff, la ricine serait détruite à partir de 60°. Mes essais d'extraction et de toxicité montrent que chauffée pendant une heure à 70° dans une solution de chlorure de sodium à 8 pour 1.000, la ricine a conservé toute sa toxicité.

La ricine est détruite par l'alcool éthylique, la lumière, l'oxygène. Elle est précipitée de ses solutions par le sulfate d'ammonium à une concentration allant de 20 à 33 pour 100 de saturation (Grabar et Koutseff). Elle peut être absorbée par la fibrine, la soie, le kaolin, la craie, le charbon animal ; l'alumine hydratée ne l'adsorbe pas, alors que le sulfate d'alumine basique constitue l'adsorbant de choix. Il reste toutefois une proportion notable de ricine non adsorbée (30 à 50 pour 100).

La ricine posséderait, en outre, un certain pouvoir saponifiant. (Braun et Behrend).

TROISIEME PARTIE

ETUDE PHARMACODYNAMIQUE

L'action de la colchicine et de la ricine sera envisagée successivement.

CHAPITRE Ier

COLCHICINE

Les effets de la colchicine seront étudiés tout d'abord sur les animaux, puis sur les végétaux.

A. — Etude de l'action de la colchicine sur les animaux.

Nous envisagerons successivement l'action toxique de la colchicine, puis son action sur les tissus, son action sur les cellules et nous dirons quelques mots de ses applications.

a) *Toxicité.*

D'après Mairet et Combemale, la dose minimum mortelle de la colchicine pour le chien et le chat est de 0 mg,5 par kilog. par voie hypodermique, elle s'élève à 1 mg, 25 lorsque le toxique est introduit par voie buccale. Chez la Souris blanche d'après Führer, la dose léthale est de 0 mg, 3 pour 100 gr. Chez le Cobaye (Arloing et Langeron), elle est de 0 mg, 1 pour 100 gr.

Chez les animaux à sang froid, la dose toxique varie avec la température. Führner et Breipohl ont constaté qu'à 10°, la Grenouille supporte 50 mg, tandis qu'à 32°, elle est tuée par une dose de 0 mg 1. La colchicine apparaît ainsi environ 400 fois plus active à chaud qu'à froid. Jacoby et Schmiedeberg expliquent ce fait par la transformation à chaud de la colchicine en un produit beaucoup plus toxique : l'oxydicolchicine.

La colchicine est environ 400 fois plus toxique pour la Souris que pour la Grenouille. Les souris jeunes sont plus sensibles que les adultes. D'après Vollmer, ce fait est dû à ce que les oxydations sont plus actives chez les animaux de petite taille et au fait que la toxicité de la colchicine augmente par oxydation.

Chez l'embryon de Poulet au stade de 48 heures, la dose léthale d'après Ancel et Mme Lallemand est de 0 mg, 005.

La dose minimum mortelle pour l'Homme par voie buccale paraît être de 8 milligrammes.

Chez l'Homme et les Mammifères, après absorption d'une forte dose de colchicine apparaissent au bout de quelques heures des vomissements, des diarrhées profuses déterminées par une vasodilatation des capillaires de l'intestin. Ces symptômes s'accompagnent d'une action excitante sur les fibres lisses, les sécrétions glandulaires et les fibres striées, déterminant des sueurs abondantes, de la polyurie et des convulsions, des contractions fibrillaires et une action contracturante prolongée.

L'action de la colchicine est lente et durable, les symptômes d'intoxication peuvent persister pendant une dizaine de jours après l'absorption de la dose toxique.

b) *Action sur les tissus.*

1° Système nerveux.

La colchicine est analgésique à faible dose, mais uniquement en injection sous-cutanée. La colchicine agit sur le système nerveux autonome du cœur et peut-être aussi d'après Jacobson sur les cellules musculaires du cœur, mais elle paraît inactive sur le sympathique cardiaque.

2° Sang.

L'injection de colchicine détermine une leucopénie passagère suivie d'une hyperleucocytose considérable qui di-

minue progressivement. Les polynucléaires diminuent, les lymphocytes et les mastzellen augmentent au cours de la leucopénie ; les polynucléaires augmentent de nombre au cours de la leucocytose.

A forte dose, on trouve dans le sang circulant les éléments normaux de la moëlle osseuse, myéloblastes et érythroblastes. Les cellules de la moëlle présentent de nombreuses figures mitotiques. A faible dose, on ne constate d'augmentation de nombre que des cellules basophiles.

D'après Coleman, le temps de coagulation diminue au cours de la leucopénie.

3° Fibres musculaires.

La colchicine a une action très nette sur les fibres lisses. D'après Dixon et Malden, elle produit une excitation vagomimétique de ces fibres. D'après Delcourt, elle augmente leur tonus. L'action excitante sur les fibres striées peut être aussi facilement mise en évidence. Jolyot a montré que la colchicine détermine chez la Grenouille un tétanos analogue à celui que provoque la strychnine avec excitabilité très exagérée, puis résolution et inexcitabilité.

4° Métabolisme.

La colchicine diminue le glycogène hépatique et provoque des troubles marqués de la glycorégulation suivant Winterstein. Cette action est révélée par un abaissement de la tolérance aux glucides lors de l'épreuve de l'hyperglycémie provoquée (Lorthioir 1933).

Chez le Chien colchicinisé, Santavy (1937) a observé que la glycémie baisse jusqu'à la mort et il pense que cette hypoglycémie est la cause de la mort. Certains auteurs ont noté la diminution de l'uricémie. Mairet et Combemale signalent ainsi que Houdé une augmentation de la diurèse que nient Lits et Zunz. La réserve alcaline est diminuée. La teneur en acide ascorbique diminue, elle aussi, sous l'influence de la colchicine, sauf dans le cerveau et le testicule (Boyland, 1937).

c) *Action sur les cellules.*

Dustin et ses élèves ont étudié l'action de la colchicine sur les cellules animales. Cet auteur résume comme suit les résultats de leurs observations. « Les cinèses qui sui-

vent les injections de colchicine ont des caractères constants et bien caractéristiques :

1° Elles se manifestent dans les zones germinatives au niveau de toutes les cellules qui, au moment de l'injection, étaient en état d'imminence caryocinétique.

2° Les figures de division présentent les caractères suivants : chromosomes tassés en une plaque équatoriale très serrée, absence de figures achromatiques, protoplasme clair, hyalin, très turgescent.

3° Ces mitoses restent bloquées à la métaphase ; elles peuvent après un repos plus ou moins prolongé (48 heures) subir trois évolutions :

a) destruction pycnotique et cytolyse,

b) reconstitution d'une figure achromatique et cytodiérèse normale,

c) reconstitution d'une figure polycentrique et formation d'un noyau monstrueux polyploïdique sans plasmodiérèse.

Dustin a proposé le nom de stathmocinèse pour caractériser l'arrêt des mitoses en métaphase par la colchicine (réaction stathmocinétique de la colchicine). La colchicine ne provoque de stathmocinèse que dans les cellules qui sont en imminence caryocinétique.

Dustin, à la suite de ces recherches, a classé la colchicine dans les poisons caryoclasiques dont la caractéristique est de provoquer dans les heures qui suivent leur application (4 à 24 heures) des destructions nucléaires intenses et d'une façon générale des altérations plus ou moins profondes des cellules en division ou du processus caryocinétique lui-même.

Dustin et ses élèves ont mis en évidence la propriété caryoclasique de diverses substances. Ils les rangent en deux groupes : 1° le type trypaflavinique (colorants d'aniline ou d'acridine, diphénol, mercure, un grand nombre d'alcaloïdes, plusieurs toxines microbiennes) caractérisé par une forte action caryoclasique précédée ou accompagnée d'une *inhibition* de la caryocinèse ; 2° le type colchicinique (dérivés organiques de l'arsenic et colchicine) caractérisé par un choc caryoclasique violent précédé d'une *excitation* violente à la division des cellules des zones germinatives avec accumulation en nombre extraordinaire de figures de division normales dans ces zones.

Tous les auteurs qui ont étudié l'action de la colchicine ont retrouvé les stathmocinèses et les pycnoses décrites par Dustin et confirmé son pouvoir caryoclasique, mais l'accord ne s'est pas établi en ce qui concerne l'excitation à la mitose, c'est ainsi par exemple qu'admise par Paff, elle a été niée par Brues dans son étude sur la régénération du foie de Rat et par Bureau et Vilter dans leur étude de la réaction colchicinique dans l'épithélium buccal de l'Axolotl.

L'action de la colchicine sur les cellules a été étudiée sur un grand nombre d'espèces animales : Homme, Lapin, Chien, Chat, Cobaye, Rat, Souris, Pigeon, Poissons, Salamandre, Grenouille, Crapaud, Escargot, Limace, etc.

Elle a aussi été étudiée sur l'embryon de Poulet arrivé à la 48e heure de l'incubation par P. Ancel et Mme Lallemand, et par Paff. « Les coupes faites dans les premières heures qui suivent l'injection de colchicine, disent P. Ancel et Mme Lallemand, montrent dans tout l'embryon des mitoses bloquées en métaphase que Dustin et de nombreux auteurs à sa suite ont signalées chez les animaux adultes et chez les végétaux, elles sont surtout nombreuses dans le tube nerveux, mais ce fait n'a rien de caractéristique, puisque chez les témoins, le tube nerveux est l'organe qui renferme le plus grand nombre de mitoses au stade de 48 heures comme à celui de 72 heures. »

24 heures après l'injection de colchicine; on trouve aussi des pycnoses plus intéressantes que les stathmocinèses parce qu'elles mettent en évidence les régions particulièrement sensibles au toxique, ces pycnoses sont localisées dans la région caudale de l'embryon ; elles affectent le renflement caudal, le tube nerveux, les derniers somites, l'ectoderme, la somatopleure. On n'en trouve habituellement pas dans la chorde et dans l'entoderme intestinal. La partie du renflement caudal dans laquelle se termine le tube nerveux est la partie la plus lésée ; chez certains embryons, elle n'est formée que de débris cellulaires. »

« Il est vraisemblable que ces lésions particulièrement intenses dans les parties dorsales de la région caudale jouent un rôle important dans l'incurvation anormale de cette région sur le dos de l'embryon, mais aucune conclusion ferme ne nous semble actuellement possible.

Au sujet de la localisation des lésions produites par la colchicine, après action de quelques heures, Paff signale

de nombreuses stathmocinèses dans le cristallin et l'ectoderme qui le recouvre et dans le mésenchyme avoisinant. Une autre localisation est la partie caudale du tube nerveux surtout dans la partie dorsale du tube. D'autres régions montrent aussi des groupes de figures colchiciniques dans les mêmes conditions expérimentales, mais les figures étaient moins nombreuses et ont été moins fréquemment observées. Ces régions sont la partie caudale repliée, l'ectoderme superficiel au-dessus du cerveau antérieur, les somites et le raphé amniotique. Dans les cultures de tissus normaux ou tumoraux, Ludford, Clearkin, von Möllendorf ont montré que la colchicine possède une action semblable à celle qui a été observée chez les animaux, elle détermine l'apparition de nombreuses cellules en métaphase avec un cytoplasme turgescent et un gros noyau dans lequel se trouvent des chromosomes altérés.

d) *Utilisation de la colchicine en thérapeutique et en biologie.*

1° Thérapeutique.

La colchicine a été introduite en thérapeutique vers 1760, sous forme de teinture de colchique utilisée dans le traitement de la goutte, et de l'arthritisme (Stöck). Ce médicament fait disparaître rapidement les douleurs et raccourcit la durée de l'accès.

Les préparations officinales de colchique sont un extrait alcoolique et une teinture préparés avec les semences. On utilise aussi la colchicine à la dose de 0 mg, 5 à 1 mg sous forme de granules.

La colchicine est un poison qui s'élimine lentement par les voies rénales et intestinales, il faut redouter l'accumulation, aussi cesse-t-on l'administration du médicament dès que des troubles gastro-intestinaux se produisent.

2° Biologie.

Le bloquage en métaphase des cellules en voie de division (réaction colchicinique) permet diverses applications biologiques.

Cette réaction peut être utilisée dans l'étude des réactions hormonales. Des hormones excitent spécifiquement la croissance de certains tissus ou organes et provoquent une multiplication cellulaire que la colchicine met en évidence en arrêtant en métaphase les cellules en divi-

sion (Allen, Leblond, Smith, Gardner, Rogers, Thales Martius, Bastenie et Zylberszac, Fleischmann et Kahn).

D'après Dustin, la réaction colchicinique trouve place dans l'étude de certains problèmes de pathologie. Elle permet d'étudier l'action des traumatismes sur les différentes catégories cellulaires et tissulaires et le rôle joué par les différents éléments dans la cicatrisation et la réparation des plaies, dans les hypertrophies, les hyperplasies et tous les phénomènes de réparation et de régénération. La réaction colchicinique permet de même l'étude des processus prolifératifs accompagnant ou suivant un grand nombre de réactions inflammatoires.

Elle peut enfin être utilisée dans l'étude des différents granulosomes infectieux et d'une façon générale dans l'étude des actions microbiennes et parasitaires sur la multiplication cellulaire.

Cette méthode, dit Dustin, rend visibles des faits qui, autrement, passeraient inaperçus, elle permet de préciser le rôle joué dans le processus cicatriciel par chaque variété d'éléments cellulaires.

La cellule cancéreuse est sensible à la colchicine, aussi cette substance peut-elle être utilisée pour étudier le mécanisme et les stades de cancérisation et pour contrôler le retour éventuel de la cellule cancéreuse à l'état de cellule saine.

B. — Etude de l'action de la colchicine sur les végétaux.

Différentes méthodes ont été employées pour étudier l'action de la colchicine sur les végétaux ; plonger des graines dans une solution de colchicine et les faire germer dans les conditions normales après les en avoir retirées ; plonger la racine ou la gemmule pendant des temps variables dans une solution de colchicine ; déposer des gouttes de cette solution sur des bourgeons ; enfin arroser la plante avec une solution colchicinée.

Pour exposer les principaux résultats obtenus, nous nous placerons successivement au point de vue macroscopique et microscopique.

a) Macroscopie :

Des graines plongées dans des solutions aqueuses de colchicine par Blakeslee, Simonnet, Chopinet et Souilijaert ont déterminé les modifications suivantes : la ger-

mination est retardée, l'axe hypocotylé, les bourgeons centraux sont plus épais que ceux des témoins. Aux fortes concentrations, la tige se développe au détriment d'un bourgeon latent à l'aisselle des cotylédons. Les fleurs des plantes traitées ont présenté dans certains cas un développement double de celui des témoins. Pour les plantes traitées avec de faibles doses (1 pour 1000) pendant deux jours, on a obtenu des individus dont les tiges, les fleurs et les feuilles étaient plus grandes que celles des témoins.

En déposant quelques gouttes de colchicine sur des bourgeons, on obtient des phénomènes semblables (Blakeslee, Blakeslee et Avery, Simonnet et Dansereau).

Dustin, Havas et Lits (1937), puis Mangenot ont étudié l'action de la colchicine sur les racines de diverses plantes. Mangenot a montré que les racines de Hycinthus orientalis, d'Allium cepa, de Lupinus albus, plongées dans une solution de colchicine à 1 pour 2.000, dissoute dans du liquide de Knop, se renflent au voisinage de leur extrémité, puis cessent de s'allonger. Le degré de tuméfaction des racines dépend du temps de séjour dans le milieu colchinisé ; il dépend aussi de l'âge des racines Les racines qui se développent rapidement se tuméfient plus que les racines qui se développent lentement ; celles qui ne s'allongent pas ne se tuméfient pas. Les racines arrêtées dans leur croissance restent vivantes comme le prouve leur pouvoir d'absorber l'eau et l'absence de tout signe de nécrose ; replacées dans un milieu non colchicinisé, elles s'allongent de nouveau si le traitement n'a pas été trop longtemps prolongé. L'intumescence colchicinique est une hypertrophie, les cellules de la région tuméfiée sont plus volumineuses, mais pas plus nombreuses que celles des témoins. Les radicelles peuvent apparaître, leur allongement est assez rapidement arrêté, elles ont l'aspect de petits bulbes. Replacées dans un liquide non colchicinisé, ces radicelles tuméfiées ne s'allongent pas, mais de nouvelles radicelles normales apparaissent.

Des résultats analogues ont été obtenus par les auteurs qui ont fait les mêmes recherches, en particulier Lefèvre sur du *blé*, Garrigues sur *Vicia faba*, P. et N. Gavaudan sur *Quercus*, *Phaseolus mungo*, *Vicia faba*, *Hordeum disticum*, *Allium scorodoprasum* et *Triticum*.

Toutefois, le *Colchicum autumnale* n'est pas lésé par la colchicine. Les racines de cette plante plongées dans des solutions concentrées de colchicine ne se tuméfient

pas. Blakeslee et ses collaborateurs (1939) la compare « au serpent immunisé contre son propre venin ». Les champignons seraient aussi insensibles à la colchicine ; Conklin (voir Blakeslee, Avery, Bergner, etc...) a observé que certains champignons et des bactéries peuvent utiliser la colchicine comme source d'azote.

En ce qui concerne l'action de la colchicine sur la gemmule, nous rapporterons les résultats de P. Gavaudan. Cet auteur a plongé la gemmule de jeunes plantules de *Vicia faba* pendant deux heures, trois jours de suite, dans une solution de colchicine à 1 p. 1000. Les parties traitées se développent beaucoup plus lentement que les témoins, souvent elles demeurent rabougries, certaines feuilles s'épaississent, subissent une torsion et prennent un aspect cloqué ; leur surface présente en totalité ou par plages une apparence satinée due sans doute à la forte turgescence des cellules épidermiques.

Le pouvoir tuméfiant manifesté par la colchicine n'a pas été retrouvé avec beaucoup d'autres substances, en particulier avec le chloral (Garrigues), mais Lefèvre l'a vu se manifester avec le phényl-uréthane. Cet auteur a observé sur du blé traité par cette substance « des actions exactement semblables à celles observées et décrites pour la colchicine et notamment au point de vue morphologique : hypertrophie bulbeuse du coléoptile, du mésocotyle et de la pointe des racines avec ralentissement progressif ou même finalement arrêt de croissance ». D'après Levan, l'acide naphtalène-acétique inhibe la croissance des racines et des radicelles et provoque la tuméfaction subterminale par l'hypertrophie des cellules. P. et N. Gavaudan ont observé une légère hypertrophie bulbeuse des racines de Triticum après action de l'acénaphtène.

b) Microscopie.

Les parties sensibles des plantes à l'action de la colchicine sont les méristèmes.

L'action de la colchicine se manifeste particulièrement sur les cellules en division. D'après Mangenot, la colchicine n'élève en aucun cas mais au contraire déprime toujours, suivant une courbe plus ou moins régulière, le nombre des caryocinèses évalué d'après les prophases. P. et N. Gavaudan notent aussi que l'influence de la colchicine se traduit par la suspension des mitoses à la métaphase.

La caryocinèse est très nettement modifiée, ses caractères atypiques paraissent dépendre exclusivement d'un défaut de fonctionnement du fuseau (Mangenot). Un autre effet souvent visible de l'action de la colchicine est le raccourcissement très prononcé des chromosomes qui se contractent et s'épaississent. (P. et N. Gavaudan). La plupart des noyaux présentent un contour très irrégulièrement incisé avec des lobes plus ou moins nombreux ayant tendance à s'isoler ; on observe des figures d'amitose aboutissant à une fragmentation en noyaux plus ou moins nombreux.

Les dimensions des noyaux augmentent très rapidement de 8η à 35η dans la racine de *Vicia faba* et jusqu'à 55η dans les ébauches radicellaires après 8 jours de traitement d'après Garrigues et jusqu'à 150η dans les racines d'*Allium cepa* et de *Veronica Beccabunga* d'après Mangenot. Ces noyaux gigantesques sont capables d'entrer en prophase et forment alors des centaines de chromosomes Levan a observé 500 paires chromosomiques dans des cellules d'*Allium cepa*). En même temps que le volume du noyau augmente le nombre des nucléoles devient plus élevé.

Les cinèses qui conduisent à la formation de noyaux polyploïdes ne se succèdent pas indéfiniment dans les méristèmes des racines soumises à l'action de l'alcaloïde ; après un temps de séjour variable dans la solution active les stathmocinèses s'arrêtent définitivement. Dès lors, les noyaux ne peuvent plus entrer en prophase même si un milieu de culture normal est substitué à un milieu colchicinique (Mangenot).

A l'aide de la colchicine, on a la possibilité d'induire expérimentalement le dédoublement du nombre des chromosomes (Blakeslee). Ainsi, par la production de races tétraploïdes, on peut obtenir des plantes produisant des fleurs et des fruits plus grands, transformer une fleur stérile en une fleur fertile, une plante dioïque en une plante hermaphrodite, une plante annuelle en une plante vivace, accroître la résistance des plantes au froid (Blakeslee).

Dustin a signalé que les nucléoles des noyaux colchicinés étaient souvent monstrueux. P. et N. Gavaudan ont fait la même remarque dans tous les tissus des végétaux qu'ils ont traités par la colchicine. La forme, la taille, la répartition, l'abondance du matériel nucléolaire doivent être attribués d'une part aux perturbations appor-

tées mécaniquement dans le fonctionnement ou la disposition des zones normales nucléo-formatives, d'autre part à la polyploïdie.

La colchicine agit aussi sur les cellules au repos ; d'après Mangenot, elle provoque une augmentation du volume nucléaire avec synthèse de chromatine ; cette action est plus marquée au niveau des ébauches radicellaires qu'au niveau des méristèmes initiaux.

Le cytoplasme dans lequel les mitochondries restent nombreuses et bien visibles n'est pas sensiblement lésé, au moins dans les premiers jours du traitement. Les altérations secondaires observées au bout d'une dizaine de jours (vacuolisation) doivent sans doute être considérées comme une conséquence de l'arrêt de la division entraînant des troubles du métabolisme général.

Des modifications des stomates ont été observées par Gavaudan sur les gemmules de *Vicia faba*.

L'action cytologique de la colchicine n'apparaît pas comme absolument spécifique. L'action de la colchicine est profondément différente de celle des rayons X ou d'autres agents chimiques tel que le chloral (Mangenot). Garrigues qui a étudié comparativement l'action du chloral et de la colchicine sur les racines de *Vicia faba* conclut que ces deux corps exercent sur le noyau des actions profondément différentes. D'après cet auteur, la colchicine influe sur le métabolisme sans altérer la structure cellulaire si le traitement n'est pas prolongé à l'excès. Le chloral, au contraire, modifie et finit par bouleverser la structure des noyaux. Le chloral comme la colchicine : 1° modifie l'appareil achromatique ; 2° provoque une contraction des chromosomes parfois accompagnée de figures caractéristiques de disjonction des paires ; 3° détermine la formation de cloisons anormales (P. et N. Gavaudan, 1939). Mais sous l'influence du chloral, le volume nucléaire n'augmente pas ; les noyaux chloralisés sont, au bout de huit jours, quelle que soit la concentration utilisée, de mêmes dimensions ou plus petits qu'au début de l'expérience (Garrigues). Les noyaux ne sont pas incisés, l'existence d'amitoses y est douteuse.

Lefèvre a cependant fait remarquer que « le poison cytotoxicologique de la colchicine ne peut être considéré comme spécifique ». En effet, le phényluréthane bloque les mitosees en pseudométaphase et donne ultérieurement des noyaux de restitution monstrueux déformés, plurilobés ou multiples. D'autre part, d'après Levan (1939),

les substances de croissance comme l'acide naphtalène-acétique provoquent l'hypertrophie des cellules et des noyaux avec multiplication consécutive du nombre des chromosomes.

D'après P. et N. Gavaudan, en confirmation des résultats de Kostoff, l'acénaphtène inhibe la caryocinèse, arrête les mitoses en métaphase et les noyaux de restitution renferment des stocks toujours accrus de chromosomes. Ces noyaux sont plus ou moins irréguliers, parfois fortement échancrés ou très déformés. Il n'existe pas de véritable fuseau après l'action de l'acénaphtène, comme après l'action de la colchicine.

Diverses interprétations ont été données au sujet de l'action cellulaire de la colchicine. D'après Mangenot, la colchicine paralysant instantanément le fonctionnement du fuseau caryocinétique empêche la division et par conséquent la prolifération cellulaire ; par contre, elle n'apporte immédiatement aucun trouble profond dans le métabolisme général de la cellule, celle-ci reste vivante, sa structure n'est pas altérée. Les cellules situées dans la zone d'allongement d'une racine colchicinée sont donc aptes à recevoir et reçoivent les mêmes matériaux nourriciers, les mêmes substances de croissance que les cellules situées au niveau correspondant d'une racine vivant en milieu normal ; mais dans cette dernière, les cellules sensibles aux facteurs de la croissance sont constamment renouvelées par la prolifération du méristème apical ; elles ne le sont pas au contraire dans la racine colchicinée : d'où l'hypertrophie des cellules de la zone de croissance et la tuméfaction de cette zone. Ce phénomène qui apparaît longtemps avant la constitution de noyaux polyploïdes ou géants est bien un trouble de la croissance. Mais la racine colchicinée finit par souffrir, les stathmocinèses s'arrêtent, les fragmentations nucléaires deviennent plus nombreuses. A ce moment, un processus lent de nécrose peut s'installer ou bien les cellules de l'extrémité de la racine se différencient (formation de trachéïdes) et cessent alors d'être sensibles à la colchicine, elles se comportent ainsi comme tous les organes à croissance finie.

D'après Beams et King, la colchicine abaisse la viscosité du cytoplasme, cette opinion est basée sur l'observation que la centrifugation déplace plus les chromosomes dans les cellules colchicinées que dans les cellules normales. P. et N. Gavaudan ont confirmé ce fait, mais font des réserves sur son interprétation. Ils pensent que ce résultat peut être dû à ce que la colchicine fait perdre à l'appareil achromatique sa rigidité caractéristique.

CHAPITRE II

RICINE

Nous rappellerons les principaux résultats obtenus à l'aide de la ricine chez les animaux et chez les végétaux.

A. — Etude de l'action de la ricine sur les animaux.

Nous diviserons cet exposé comme pour la colchicine en trois parties :

la toxicité,
l'action sur les tissus,
l'action sur les cellules.

a *Toxicité.*

D'après Kobert et Stillmark, la dose léthale pour le chien est de 0, mg 03 par kilog. Pour le Cobaye, cette dose est de 0, mg 012.

Avec de la ricine parfaitement purifiée, Osborne, Mendel et Harris ont obtenu chez le lapin la mort en huit jours à la suite d'injection sous-cutanée avec une dose de 0, mg 0014 par kilog ; en 7 jours avec 0, mg 005. Karrer, Smirnoff, Ehrensperger, Van Slooten et Max Keller ont obtenu la mort du lapin en 4 jours, après injection intraveineuse, avec des doses de 0, mg 003 à 0, mg 005.

La ricine est un poison pour lequel le temps est un facteur nécessaire à la toxicité : Carmichael a montré cette importance du facteur temps dans l'intoxication chez la souris blanche par la ricine en injection sous-cutanée. Des souris pesant toutes 25 gr. sont mortes en 24 à 30 heures après une injection de 0, mg 20 ; en 65 heures, avec une dose de 0, mg 08 ; en 4 jours, avec la dose de 0, mg 02. Les doses de 0, mg 004 et 0, mg 016 ont permis la survie. Truche a montré que si l'on se réfère au gram-

me d'animal, la dose minima mortelle de ricine est la même pour le cobaye et pour la souris. Pour l'embryon de Poulet, à la quarante-huitième heure de l'incubation, la dose léthale est de 0, mg 001 d'après P. Ancel et Mme Lallemand.

Atténuation de la toxicité. — Olmer et Sauvan ont constaté que sous l'influence du vieillissement, les propriétés toxiques de la ricine s'atténuent rapidement et que la ricine chauffée a perdu son pouvoir toxique. Marie a signalé que la toxicité de la ricine est diminuée en présence d'adrénaline, il considère que cette toxine végétale est neutralisée, mais à un degré bien moindre que les toxines microbiennes solubles, tétaniques et diphtériques. Une solution glycérinée de ricine tue une souris en 24 heures à la dose de 0,002 cm^3. Après son mélange avec trois gouttes d'adrénaline, cette quantité ne tue une souris de même poids qu'en trois jours. Une dose dix fois plus faible de ricine, 0,0002 cm^3 tuant une souris en 4 à 5 jours est devenue tout à fait inoffensive après avoir subi pendant 24 heures à 35° l'action de l'adrénaline (3 gouttes de solution à 1 p. 1000).

Maria Heymans, utilisant sur la ricine la technique de Ramon pour l'obtention des anatoxines, conclut de ces recherches : « La toxicité de la ricine formolée diminue à un haut degré, mais ne devient pas entièrement nulle ». La désintoxication de la ricine est fonction de la teneur en formol, de la température et du temps de contact de la ricine avec le formol.

Selon Tappeiner, l'éosine diminue la toxicité de la ricine, les sels de cuivre ont le même effet d'après Tsuchihasi.

Symptomatologie. — L'intoxication par la ricine provoque des symptômes, étudiés par différents auteurs. Nicolle et Césari ont fait des injections sous-cutanées à des cobayes et constaté que des doses décroissantes allant de 3 gouttes à 10^{-3} goutte d'une solution glycérinée de ricine de l'Institut Pasteur, déterminent des lésions appartenant au type escharre sèche. En injection intraveineuse avec une goutte à 10^{-1} goutte, on voit les cobayes succomber dans la nuit. La toxicité est deux fois et demie plus grande par injection intraveineuse que par injection sous-cutanée.

Les principaux symptômes observés dans l'intoxication ricinique ont été les suivants : Après injection intraveineuse entraînant une mort rapide, on constate, après

10 heures que les animaux deviennent tristes et tremblent quand ils cherchent à se mouvoir, puis apparaissent une dyspnée intense, une vive sensibilité thoraco-abdominale, un abaissement progressif de la température et le coma entrecoupé de secousses convulsives. Avec des doses produisant une mort plus lente (1 jour), on observe de l'hébétude après 16 heures, de la sensibilité thoraco-abdominale et un état comateux à marche lente.

A l'autopsie, Nicolle et Césari ont observé une congestion des organes abdominaux, des taches hémorragiques au niveau des plaques de Peyer, de l'hyperhémie des poumons et des surrénales, un aspect marbré du foie acajou ou jaunâtre avec des taches nécrotiques. Les plèvres et le péritoine renferment un peu de sang violacé, l'estomac est souvent distendu par un liquide sanguinolent.

D'après Stepanoff, la ricine s'élimine par voie intestinale.

Allergie. — Certains individus présentent une hypersensibilité pour la ricine, celle-ci paraît se manifester chez ceux qui ont manipulé cette substance pendant une certaine période (travailleurs de laboratoire, ouvriers des moulins à ricin, personnes vivant dans une atmosphère chargée de poussières de ricin). D'après Barnard et Ratner, on comptait en 1930, environ 50 cas d'allergie signalés. L'inhalation de poudre de ricine provoque des symptômes décrits pour la première fois par Alilaire et semblables à ceux de la fièvre des foins : rougeur et œdème des conjonctives, abondante sécrétion lacrymale, éternuements violents et répétés, souvent un accès d'asthme se surajoute au catarrhe oculo-nasal ; on a aussi constaté une éruption envahissant la face et le cou. Si on dépose sur le dos de la main une trace de la solution glycérinée de ricine de l'Institut Pasteur, on voit apparaître une plaque urticarienne. D'après Ratner et Barnard, ces phénomènes seraient déterminés par un principe différent de la toxine. Grabar et Koutseff ont séparé la toxine de l'allergène par précipitations fractionnées avec du sulfate d'ammonium suivies d'ultra filtrations.

Immunité. — La ricine se comporte comme un antigène ainsi que l'a montré Ehrlich en 1891. En immunisant des souris par des doses croissantes de ricine introduites par voie gastrique, cet auteur a trouvé que l'immunité se produit brusquement au sixième jour. L'immunité

ainsi obtenue est de longue durée. Elle est transmissible à un autre animal par injection de sérum provenant d'un animal immunisé. La toxicité de la ricine est détruite *in vitro* par ce sérum.

Truche a préparé des sérums antitoxiques très actifs en immunisant des chèvres. Stepanoff a observé que le sang des animaux immunisés possède bien des propriétés antitoxiques. Ramon et Richou en immunisant des moutons avec des tourteaux de ricin, ont fait apparaître, au bout d'un certain temps dans le sérum de ces moutons de l'antiricine dont le taux a augmenté peu à peu.

D'après Maria Heymans, la ricine formolée confère une immunité aux lapins auxquels elle est injectée, mais cette immunité est relativement limitée si on la compare à celle obtenue par les toxines microbiennes formolées. La ricine formolée immunise cependant le lapin et le cobaye contre la ricine jusqu'à concurrence de 60 à 80 doses mortelles au minimum.

Un séjour à 37° de ricine avec 1 p. 2000 de perhydrol en présence de quantités infinitésimales de cuivre, atténue la toxine, mais laisse intacte les qualités antigéniques et vaccinantes pour le lapin (Boquet).

b) *Action sur les tissus.*

La ricine a un pouvoir agglutinant considérable. Lorsqu'on ajoute une solution de ricine à du sang, il se produit une véritable agglutination des hématies, elle s'obtient également avec le sang défibriné et avec les globules lavés dans l'eau physiologique après centrifugation.

L'addition d'une solution de ricine à une suspension de globules rouges dans de l'eau salée isotonique, produit des résultats différents selon les quantités relatives de ricine et d'hématies mises en présence. Pour une dose de ricine très faible, on constate simplement que les globules sont devenus moins résistants à l'hypotonie. Pour une dose de ricine un peu plus importante, les hématies sont agglutinées ; elles tombent rapidement au fond du vase ; on peut les mettre en suspension homogène à nouveau par agitation, mais elles se sédimentent rapidement par le repos. Avec une dose de ricine plus élevée, les globules adhèrent énergiquement entre eux et aux parois du vase ; il est impossible de les remettre en suspension homogène, on dit qu'il y a « conglutination » des hématies. Avec une dose de ricine plus grande encore, il se produit,

en outre une hémolyse plus ou moins complète, les globules rouges sont détruits, le liquide devient uniformément rouge et transparent.

Les globules rouges lavés avec soin au moyen d'une solution saline isotonique sont beaucoup plus sensibles à l'action de la ricine que des globules provenant du même animal, mais subissant l'action de la toxine en présence de plasma ou de sérum. (Machebœuf).

La ricine n'a pas le même pouvoir agglutinant sur le sang pour toutes les espèces animales. D'après Rehns, le pouvoir agglutinant est dix fois plus élevé pour le sang de lapin que pour le sang de bœuf ; le sang de chien est plus réfractaire encore.

Selon Kobert, la concentration limite inférieure d'agglutination est de 1 p. 10.000.000 pour le cobaye et le pigeon, de 1 p. 2.000.000 pour l'homme, le chat, le lapin, la poule, de 1 p. 400.000 pour le bœuf et la grenouille et seulement de 1 p. 200.000 pour le cheval et le hérisson. Certains animaux qui, normalement, sont peu sensibles à l'action de la ricine présentent dans leur sérum des antiagglutinines, mais ces antiagglutinines sont seulement capables de protéger les globules de ces mêmes animaux et non ceux d'animaux sensibles à l'action de la ricine.

Placés dans une solution de ricine, les globules l'adsorbent entièrement, on peut ainsi, au moyen de globules quelconques employés en quantité suffisante et en prolongeant suffisamment leur contact, rendre inertes, les plus fortes solutions de toxalbumines (Rehns). Les globules même sursaturés de toxalbumine sont encore capables d'absorber certaines autres substances. Ainsi, les glucosides qui agissent en se fixant sur le stroma comme la cyclamine, la digitaline, la saponine, les hémolysent parfaitement (Rehns).

L'agglutination des hématies à la ricine ne se fait qu'en présence d'électrolytes. Rona et Gyorgy ont établi que la nature des électrolytes jouait aussi un rôle, en particulier le pouvoir d'action croit avec la valence, mais cependant l'action sensibilisatrice n'apparaît plus pour des cations tri et tétravalents.

Le cuivre exerce une action empêchante sur les propriétés hémoagglutinantes de la ricine et produit une hémolyse. Celle-ci ne paraît pas être amenée par l'action de la ricine cuivrée, mais par celle du cuivre lui-même. (Tsuchihasi).

L'éosine par sa fluorescence diminue le pouvoir agglutinant de la ricine. (Tappeiner).

La ricine n'agglutine plus les globules rouges en présence de lécithine d'après Pascucci ; elle est hémolytique.

Le pouvoir agglutinant de la ricine a permis à Brioux et Guerbet d'identifier la présence de tourteaux de ricin dans des tourteaux alimentaires. Ces auteurs considèrent que cette méthode biologique permet de déceler jusqu'à 0 gr. 2 p. 100 de ricine dans un tourteau d'arachide.

La ricine agit *in vitro* sur d'autres cellules animales que les hématies ; elle agglutine en particulier les leucocytes et même des suspensions de cellules animales plus ou moins broyées telles que des émulsions de pulpe de foie.

In vivo, on ne constate pas dans le sang de l'animal intoxiqué par la ricine, d'agglutination ni d'hémolyse. D'après Launoy, les lapins intoxiqués par la ricine et dont la mort survient en 24 heures, présentent une forte diminution de la coagulabilité du sang, leur sérum subit des modifications telles que la valeur antitryptique de ce liquide est nettement augmentée.

c) *Action sur les cellules.*

Cette étude a été faite par Levaditi et Mutermilch *in vitro* sur des fragments d'organes d'embryons de poulet placés à 37° dans du plasma de poule. Ces auteurs ont observé que la ricine empêche l'apparition et la multiplication des cellules fusiformes avec les fragments de cœur et de rein. Elle s'oppose à la sortie des éléments migrateurs avec les morceaux d'organes hématopoïétiques.

La ricine agit à des concentrations très faibles, 1 pour 100.000, et partiellement à 1 p. 1.000.000 sur les fragments de cœur. Chauffée à 100°, la ricine devient inactive. Elle se fixe très rapidement sur les éléments cellulaires sensibles à son action toxique. Des fragments de cœur sont plongés dans 20 gouttes d'une solution de ricine à 1 p. 100, puis après un temps de contact qui a varié de 2 à 30 minutes, ces fragments sont retirés, lavés dans 25 cm^3 de liquide de Ringer et placés dans du plasma. Après 2 minutes de contact, la ricine se fixe sur les cellules fusiformes et empêche leur sortie et leur prolifération. Le temps exigé pour cette fixation varie d'ailleurs suivant la concentration de la ricine. Le temps exigé pour la fixation de la ricine est inversement proportionnel à la concentration du poison. Les modifications

subies par les cellules sous l'influence de la ricine sont définitives.

La ricine, préalablement traitée par des hématies de poule, continue à être toxique pour les cellules fusiformes du cœur d'embryon de poulet ; 3 cm³ d'une solution de ricine à 1 p. 100 ont été traités pendant deux heures à 37° avec 3 cm³ d'hématies de poule préalablement lavés. Le liquide surnageant même dilué s'est montré encore actif. Il semble donc que le poison qui agit sur les cellules fusiformes de cœur est différent de l'agglutinine qui se fixe sur les hématies. Ces résultats tendent à montrer que le principe toxique de la ricine est différent de l'agglutinine, comme Rehns l'avait déjà supposé en 1902.

B. — Etude de l'action de la ricine sur les végétaux.

L'action de la ricine sur le développement des plantes ne paraît pas avoir retenu l'attention des auteurs ; leurs travaux portent surtout sur l'évolution de la ricine pendant la germination des graines de ricin. D'après Cruz, la germination ne détruit pas le principe toxique contenu dans la graine. La macération de 6 jeunes tiges de 7 jours tue le cobaye en 5 jours par injection sous-cutanée.

Agulhon a entrepris un travail important sur cette question. D'après cet auteur, la ricine toxine disparaît lentement dans la germination des graines de ricin, elle reste localisée dans l'albumen, on n'en trouve que très peu dans la plantule ; sa disparition coïncide avec le flétrissement de l'albumen, c'est-à-dire 30 jours après le début de la germination. Il en est de même de la ricine agglutinine. Cette dernière semble cependant disparaître plus vite que la toxine. Pendant une période assez courte de la croissance, à côté de l'agglutinine, une hémolysine apparaît à la fois dans la plantule et dans l'albumen. Cette hémolysine est thermolabile, détruite par précipitation alcoolique et insensible à l'action du sérum anti-ricinique.

La ricine arrêterait les mouvements protoplasmiques dans certaines cellules végétales, lors de l'introduction de celles-ci dans des solutions de ricine. (Machebœuf).

QUATRIEME PARTIE

COMPARAISON ENTRE LES EFFETS DE LA COLCHICINE ET CEUX DE LA RICINE SUR LES ANIMAUX ET LES VÉGÉTAUX

La comparaison entre la colchicine et la ricine au point de vue de leur action sur les organismes des animaux et des végétaux peut être partiellement établie en se basant sur les résultats obtenus par les auteurs, j'ai cherché à la compléter par des recherches personnelles.

CHAPITRE Ier

ACTION de la COLCHICINE et de la RICINE sur les ANIMAUX

J'envisagerait successivement la toxicité, le pouvoir tératogène et l'action sur les tissus.

A. — Toxicité.

La colchicine et la ricine sont des poisons à type lent. Le temps est pour ces substances un facteur nécessaire au développement de la toxicité. Elles sont toutes deux très toxiques, mais la ricine apparaît plus toxique que la colchicine. C'est ainsi que chez le Lapin, 3 mg. de

colchicine tuent un kilog. d'animal (Maurel), alors que 0 mg 005 de ricine donnent le même effet (Karrer).

Au point de vue de l'élimination du toxique, il semble qu'il existe une différence essentielle entre la colchicine et la ricine, la première s'éliminant surtout par le rein et la seconde par voie intestinale. Toutes deux cependant ont une action très marquée sur le tube digestif, la colchicine déterminant des congestions de l'intestin, causes de diarrhées profuses et la ricine des taches hémorragiques localisées au niveau des plaques de Peyer.

En ce qui concerne l'embryon de Poulet, à la quarante-huitième heure de l'incubation, la dose léthale de colchicine est de 0 mg, 005 et celle de ricine de 0 mg,00025 (Ancel et Lallemand). J'ai recherché sur ce même objet, la toxicité de la ricine pour les trois échantillons dont il a été question dans le deuxième chapitre de ce travail, la ricine Merck et les deux échantillons que j'ai préparé en partant des tourteaux de ricin, *ricine a* et *b*. La préparation de ces échantillons était nécessaire à cause de la faible quantité de ricine Merck mise à ma disposition. J'ai déposé sur l'embryon de Poulet, arrivé à la quarante-huitième heure de l'incubation et ne présentant aucun retard de développement, ni aucune anomalie de forme, une goutte d'une solution de ricine à 1 p. 400.000. Comme le compte-gouttes débitait 20 gouttes au centimètre cube, la dose était donc de 0 mg, 000125, soit 1,25 gamma. Treize œufs ont reçu de la *ricine M*, onze de la *ricine a* et douze de la *ricine b*.

Les embryons sont morts dans les délais suivants : Pour la *ricine M* ; 2 le quatrième jour, 6 le cinquième, 2 le sixième, 2 le septième et 1 le huitième. Pour la *ricine a* : 1 le troisième jour, 4 le quatrième, 3 le cinquième, 2 le sixième et 1 le septième. Pour la *ricine b* : 2 sont morts le quatrième jour, 6 le cinquième, 1 le sixième, 1 le septième et 1 le huitième.

A 96 heures d'incubation, la mortalité pour la *ricine M* était donc de 15,3 %, celle de la *ricine a* de 45,4 % et celle de la *ricine b* de 16,6 %.

A 120 heures, la mortalité a beaucoup augmenté, elle est de 61,5 % pour la *ricine M*, de 72,7 % pour la *ricine a* et de 75 % pour la *ricine b*.

A 144 heures, la mortalité est de 76,9 % pour la *ricine M*, de 90,9 % pour la *ricine a* et de 83,3 % pour la *ricine b*.

A 168 heures (7 jours), la mortalité pour la *ricine M* est de 84,6 %, celle de la *ricine a* de 100 %, celle de la *ricine b*, de 90,9 %.

Enfin, au début du huitième jour de l'incubation, tous les embryons étaient morts.

Il résulte de cette expérience que la toxicité des échantillons de ricine que j'ai préparés était plutôt supérieure à celle de la *ricine M*. Cependant, les produits que j'ai obtenus paraissaient moins purs ; en effet, tandis que la *ricine M* était blanche et se dissolvait sans le moindre résidu, les *ricines a* et *b* étaient grisâtres et laissaient un léger résidu. Il est donc vraisemblable que la plus grande activité des *ricines a* et *b* était due au fait qu'elles étaient préparées depuis peu de temps, tandis que la *ricine M* avait au moins deux années de conservation dans de bonnes conditions, il est vrai (flacon jaune bouché à l'émeri et paraffiné).

B. — Action tératogène.

Nous avons signalé que, d'après P. Ancel et Mme Lallemand, la ricine, comme la colchicine, donne naissance à des monstres strophosomes et que ces substances sont les seules qui aient produit de tels monstres parmi une cinquantaine que ces auteurs ont expérimentées.

J'ai retrouvé avec les trois échantillons de ricine que j'ai utilisés, les faits décrits par P. Ancel et Mme Lallemand. Dans l'expérience décrite plus haut, de nombreux embryons morts ou vivants présentaient à la quatre-vingt-seizième heure de l'incubation les courbures anormales décrites par ces auteurs. Onze embryons sur 13 injectés avec la *ricine M* présentaient une lordose, 11 sur 11 avec la *ricine a* et 11 sur 12 avec la *ricine b*. Les embryons morts le cinquième jour et les survivants étaient tous en retard de développement par comparaison avec les témoins, presque tous avaient une allantoïde caudale et une célosomie totale supérieure moyenne et inférieure, cette dernière laissant à nu les mésonéphros dans toute leur étendue, ainsi que le rectum, ce qui est un des caractères des strophosomes. Ceux chez lesquels le retard de développement était le moins accentué montraient les ébauches des membres supérieurs et inférieurs rejetés vers le dos, autre caractère typique des strophosomes, le bourgeon caudal était cependant replié vers le ventre, tandis que chez les strophosomes colchiciniques,

il est habituellement à ce stade nettement relevé sur le dos.

Les trois échantillons de ricine ont en somme provoqué l'apparition de monstres strophosomes dont les caractères étaient d'autant plus apparents que la mort était survenue plus tardivement.

C. — Action sur les tissus et les cellules.

La comparaison des effets de la colchicine et de la ricine sur les tissus et les cellules ne peut être faite en détail parce que les auteurs ne se sont jamais placés à ce point de vue comparatif et que les expériences faites avec l'une de ces substances ne l'ont pas été avec l'autre. On sait cependant que la colchicine et la ricine ont des actions différentes sur le sang. La caractéristique de la ricine est l'agglutination des globules rouges qui n'existe pas avec la colchicine. En ce qui concerne la coagulabilité du sang, il existerait aussi une différence essentielle entre ces deux substances. D'après Launoy, la ricine diminue la coagulabilité du sang, tandis que d'après Coleman, le temps de coagulation est diminué après injection de colchicine.

J'ai cherché à comparer les lésions produites dans l'embryon de Poulet par la colchicine et la ricine données toutes deux à dose subléthale. Ces lésions ont déjà été décrites pour la colchicine par P. Ancel et Mme Lallemand et par Paff, comme je l'ai rappelé dans un précédent chapitre. L'examen des coupes sériées d'embryons colchicinisés ou ricinisés à la quarante-huitième heure et sacrifiés à la soixante-douzième heure ou à la quatre-vingt-seizième m'a montré que la colchicine et la ricine ont les mêmes effets. Toutes deux font apparaître de nombreuses stathmocinèses dans toutes les parties de l'embryon, mais plus particulièrement dans le tube nerveux et surtout dans la région caudale. On observe aussi de nombreuses pycnoses localisées dans le renflement caudal de l'embryon, le tube nerveux, les derniers somites, l'ectoderme et la somatopleure. La région la plus lésée est celle dans laquelle se termine le tube nerveux, on y trouve de nombreuses cellules pycnotiques, à côté de débris cellulaires plus ou moins abondants. Le tube nerveux dans sa partie caudale présente lui aussi de nombreuses cellules pycnotiques, surtout dans sa partie dorsale. Des cellules pycnotiques encombrent aussi sa lumière. Dans certains points,

la partie dorsale du tube nerveux fait défaut, sa cavité s'ouvre ainsi à l'extérieur. J'ai aussi observé chez certains embryons deux tubes nerveux placés côte à côte sur des coupes transversales. Cet aspect étant dû à un plissement du tube nerveux, la partie plissée présentait des cellules pycnotiques nombreuses.

Les lésions du tube nerveux remontent plus ou moins haut, suivant les cas, mais elles s'atténuent toujours lorsqu'on examine l'embryon en allant de l'extrémité caudale vers l'extrémité céphalique. Comme P. Ancel et Mme Lallemand l'avaient observé pour la colchicine, je n'ai constaté avec la ricine aucune lésion de la chorde ni de l'endoderme.

CHAPITRE II

ACTION DE LA COLCHICINE ET DE LA RICINE SUR LES VÉGÉTAUX

Nous envisagerons successivement les effets de ces toxiques sur la croissance des végétaux et sur leur structure cellulaire.

A. — Effets sur la croissance.

Sous l'action de la colchicine, les végétaux subissent un ralentissement ou même un arrêt de croissance. Les racines plongées dans une solution de colchicine se renflent au voisinage de leurs extrémités, puis cessent de s'allonger.

L'étude des effets de la ricine sur la croissance n'ayant pas été faite jusqu'ici, j'ai effectué des recherches dans ce sens, comparativement avec les effets de la colchicine. J'exposerai successivement la technique utilisée, l'action tuméfiante sur la racine et je terminerai par une étude sur l'hydrate de chloral.

a) *Technique.*

Les expériences ont été réalisées sur des bulbes d'*Allium cepa*, variété de Mulhouse.

Les bulbes sont disposés sur des tubes à essai d'une contenance de 25 cm^3 environ. Ceux-ci sont remplis de liquide de Knop dilué au demi. On a pris soin que le bulbe affleure le liquide sans toutefois le toucher afin de ne pas provoquer la dissolution des réserves de la plante et modifier ainsi la croissance des racines. Selon la température (18 à 22°), les racines apparaissent 24 à 48 heures après la mise en culture et plongent dans le liquide. Le liquide de Knop peut se préparer d'après

la formule suivante (Pfeffer) qui comprend deux solutions :

a) Sulfate de magnésium cristallisé 4,1 gr., eau 70 cc.
b) Nitrate de calcium 8 gr., nitrate de potassium 2 gr., phosphate monopotassique 2 gr., eau distillée 70 cc.

Au moment de l'emploi, on prolève 10 cc. de *a* et 10 cc. de *b*, on étend à un litre avec de l'eau distillée. On obtient ainsi le liquide de Knop. Si l'on prélève 5 cc. de *a et* 5 cc. de *b* et qu'on complète au litre avec de l'eau distillée, le liquide de Knop est dilué de moitié. C'est ce dernier que j'ai utilisé. L'eau distillée a toujours été préparée dans un appareil en verre.

Les plantes en expérience ont été maintenues dans une enceinte fermée, à l'obscurité, à la même température. Chaque série d'expériences renfermaient toujours un nombre important de témoins.

Quand les racines ont atteint une longueur voisine de 2 cm, on en laisse subsister cinq, les autres sont coupées au niveau du bulbe. On mesure alors la longueur des cinq racines restantes, à un demi-millimètre près, à l'aide d'un compas et d'un double décimètre. A ce moment, on place les bulbes d'oignon sur de nouvelles solutions renfermant le produit à expérimenter, colchicine ou ricine dissout dans du liquide de Knop, dilué à moitié. On effectue des mensurations de longueur un, deux, cinq, huit et quinze jours après le début du traitement. On note parallèlement la croissance des racines témoins.

Des racines ont été prélevées en cours d'expérience dans le but d'effectuer des examens microscopiques. Ces prélèvements ont eu lieu au même moment qu'étaient effectuées les mesures d'accroissement, un, deux, cinq, huit et quinze jours après la mise des racines dans les solutions toxiques. Les racines prélevées sont placées dans du liquide de Bouin pour les fixer (acide picrique, formol, acide acétique). Elles y demeurent 48 heures, puis elles sont mises dans l'alcool à 95° pendant 24 heures. On les fait passer ensuite dans deux ou trois bains d'alcool absolu pendant quelques heures, puis dans deux ou trois bains de toluène. Les racines sont ensuite inclues dans la paraffine, puis coupées en série.

b) *Action sur la vitesse de croissance de la racine.*

Les principaux résultats obtenus concernant l'action de la colchicine et de la ricine sur la vitesse de croissance de la racine ont été résumés dans des tableaux. J'y ai noté le numéro de l'expérience, la dose utilisée, les jours où les mensurations des racines ont été pratiquées en partant de celui où les racines ont été plongées dans la solution toxique, le nombre des racines mesurées le même jour, l'accroissement en longueur des racines des plantes témoins et des intoxiquées, et enfin le pourcentage d'accroissement des racines intoxiquées par rapport aux témoins, chiffre qui indique la puissance toxique de la solution.

Je n'ai fait que deux expériences sur la colchicine dont l'action est bien connue, ces expériences ne devant servir que de point de comparaison avec les résultats obtenus avec la ricine dans les mêmes conditions expérimentales. Les résultats concernant la colchicine sont donnés dans le tableau I ; ils montrent qu'à la concentration de un pour 2.000, la colchicine ralentit dans des proportions considérables l'accroissement en longueur de la racine.

Dans le tableau II, sont résumés les résultats obtenus comparativement avec les trois échantillons de ricine que j'ai utilisés dans mes expériences. Ils montrent que la

TABLEAU I

COLCHICINE : *Dose* 1 *p.* 2000

N° de l'expérience	Jours de mesure	Nombre de racines	Accroissement en longueur des racines (en mm)		Pourcentage d'accroissement Colchicine
			Témoins	Colchicine	Témoins
9	1	30	3,7	1,5	40,5
	5		13	2,6	20
	8		18,8	3	10
10	1	60	9,6	2,4	25
	5		27,7	3,3	11,9
	8		38,8	3,5	9
	15		65,6	3,5	5,3

TABLEAU II

RICINE M, RICINE a, RICINE b

N° de l'expérience	Dose	Jours de mesure	Nombre de racines	Accroissement en longueur (en mm)				Pourcentage d'accroissement		
				Témoins	Ricine M	Ricine a	Ricine b	Ricine M / Témoins	Ricine a / Témoins	Ricine b / Témoins
11	1/500	1	60	5,4	5,0	1,6	2,6	92,5	29,6	51,7
		2		11,7	9,2	3,2	5,1	78,6	27,3	43,5
		5		29,3	22,3	9,5	14,9	76,1	32,4	50,8
		9		45,0	28,7	11,7	16,7	63,7	65	37,1
10	1/1000	1	54	9 6	9,1	5,6		94,7	28,3	
		5		27,7	24,8	15,5		89,5	55,9	
		8		38,8	31,4	21,8		80,9	56,1	
		15		65,6	38,3	33,5		58,3	51	

TABLEAU III

RICINE a.

N° de l'expérience	Dose	Jours de mesure	Nombre de ricines	Accroissement de longueur (en mm)		Pourcentage d'accroissement Ricine
				Témoins	Ricine	Témoins
7	1/100	1	25	7,3	0,15	2
		3		10,55	0,3	2,8
		6		23,6	1,6	6,7
10	1/100	1	35	9,6	1,0	10,4
		5		27,7	2,2	7.9
		8		38,8	2,6	6,7
		15		65,6	2,2	3,3
7	1/500	1	30	7,3	1,5	20,5
		3		10,55	3,2	30,3
		6		23,6	6,4	27,2
8	1/500	1	38	7,5	2,0	26,6
		5		32,4	6,7	20,6
		8		44,5	9,4	21,1
		15		63,2	12,8	20,2
11	1/500	1	30	5,4	16	29,6
		5		29,3	9,5	32,4
		9		45	11,7	26
7	1/1000	1	35	7,3	2,7	36,9
		3		10,55	7,9	74,8
		6		23,6	14,1	59,7
8	1/1000	1	40	7,5	3,8	50,6
		5		32,4	16,4	50,6
		8		44,5	24,9	55,9
		15		63,2	30	47,4
10	1/1000	1	39	9,6	5,6	58,3
		5		27,7	15,5	55,9
		8		38,8	21,8	65,1
		15		65 6	33,5	51
8	1/2000	1	39	7,5	4,6	61,3
		5		32,4	23,1	71,2
		8		44,5	33,8	75,9
		15		63,2	48,6	76,8
7	1/5000	1	19	7,3	5,5	75,3
		3		10,55	9,6	90,9
		6		23.6	24	100

ricine M est la moins toxique et la *ricine a* la plus toxique. Ces résultats sur *Allium cepa* sont d'accord avec ceux qui avaient été obtenus avec l'embryon de Poulet.

Le tableau III est consacré aux résultats obtenus avec la *ricine a*. Ils montrent qu'à la concentration de un pour 100, l'effet lésant est considérable et qu'il s'atténue au fur et à mesure que la concentration diminue pour disparaître complètement ou presque avec une concentration de 1 pour 5.000. La ricine paraît donc beaucoup moins toxique pour *Allium cepa* que la colchicine. La concentration de ricine de 1 pour 100 lèse plus que la concentration de 1 pour 2.000 de colchicine, mais la concentration de ricine de 1 pour 500 lèse moins que cette dernière. La ricine semble donc être dix fois moins toxique environ que la colchicine. Les résultats obtenus chez l'embryoon de Poulet par P. Ancel et Mme Lallemand montraient, au contraire, que la ricine est plus toxique que la colchicine, puisque d'après ces auteurs, le même effet léthal est obtenu avec une concentration de 1 pour 10.000 pour la colchicine et de 1 pour 50.000 avec la ricine. Celle-ci apparaissait ainsi cinq fois plus toxique environ que la colchicine. L'échantillon de ricine utilisé par ces auteurs était le même que la ricine Merck qui m'a servi dans mes expériences, ou l'échantillon de *ricine a* que j'ai utilisé, était très nettement plus toxique que l'échantillon de ricine Merck.

De ces différentes expériences, on peut donc conclure que la ricine est plus toxique pour l'embryon de Poulet que la colchicine, mais qu'elle l'est moins pour *Allium cepa*.

c) *Action tuméfiante sur les racines.*

Différents auteurs (Dustin, Havas et Lits, P. et N. Gavaudan, Mangenot) ont constaté que des racines traitées par la colchicine se renflent au voisinage de leur extrémité puis cessent de s'allonger. D'après Mangenot, la dose la plus favorable pour obtenir cette tuméfaction est 1 pour 2.000 ou 1 pour 3.000.

Dans mes expériences, j'ai aussi constaté cette tuméfaction subterminale donnée par la colchicine. La figure 4 montre la formation de cette tuméfaction de racines plon-

gées dans une solution à 1 pour 2.000 pendant 1, 5, 8 et 15 jours... On voit que la tuméfaction croît avec le temps de séjour.

Fig. 4. — Racines plongées dans une solution de colchicine à 1 p. 2000. De droite à gauche: après 1, 5, 8 et 15 jours de séjour. G X 2.

Les racines qui se sont développées dans une solution de *ricine a* ont aussi présenté des tuméfactions. A la dose de 1 pour 500, toutes les racines sont tuméfiées ; avec des doses plus faibles, les tuméfactions sont moins nettes et ne se trouvent pas sur toutes les racines. La figure 5 montre des racines développées dans diverses concentrations de ricine pendant 15 jours. On voit de gauche à droite, une racine témoin et des racines plongées dans des concentrations de 1 pour 2.000, 1 pour 1.000 et 1 pour 500. La tuméfaction produite par la ricine diffère de celle produite par la colchicine en ce que la tuméfaction s'étend sur une plus grande longueur. Fréquemment et surtout avec la concentration de 1 p. 2.000,

on observe une bifurcation de la racine à son extrémité terminale. Les radicelles apparaissent aussi souvent bifurquées ou même trifurquées.

Fig. 5. — De gauche à droite: une racine témoin, puis des racines plongées pendant 15 jours dans des solutions renfermant 1 p. 2000, 1 p. 1000 et 1 p. 500 de ricine a. G X 1,5.

La figure 6 montre le développement de la tuméfaction après 1, 5 et 8 jours de séjour dans une solution à 1 pour 500 de *ricine a.*

Fig. 6. — Racines ayant séjourné pendant des temps différents dans une solution de ricine à 1 p. 500, de gauche à droite 1,5 et 8 jours. G X 2.

d) *Action de l'hydrate de chloral.*

Cette réaction de la racine d'*Allium cepa* commune à la colchicine et à la ricine a été aussi signalée comme je l'ai rappelé dans un précédent chapitre par Lefèvre pour le phénylurétane, tandis que Garrigues ne l'avait pas observée avec le chloral sur *Vicia faba* ; j'ai pensé qu'il serait bon d'étudier aussi l'action de l'hydrate de chloral sur *Allium cepa* dans les mêmes conditions expérimentales que celles où je m'étais placé pour étudier la colchicine et la ricine. L'action du chloral sur les racines a, en effet, déjà, été rapprochée par divers auteurs de celle de la colchicine. Ces deux substances ont été considérées comme modifiant l'appareil achromatique des cellules en division, comme provoquant une certaine contraction des chromosomes et comme déterminant la formation de cloisons anormales. Des différences sensibles dans l'action de ces deux substances ont cependant été observées. D'après Garrigues, la colchicine influe sur le métabolisme sans altérer la structure cellulaire si le traitement n'est pas prolongé à l'excès. Le chloral, au contraire, modifie et finit par bouleverser la structure du noyau. La colchicine provoque l'augmentation du vo-

lume nucléaire avec synthèse de chromatine, tandis que le chloral, quelle que soit la concentration, n'exerce aucune action semblable sur le noyau.

L'action de l'hydrate de chloral a été étudiée sur l'embryon de Poulet à la quarante-huitième heure de l'incubation par G. Angel ; cet auteur a constaté que contrairement à la colchicine, il ne donne naissance à aucun strophosome.

Les résultats que j'ai obtenus avec l'hydrate de chloral sont résumés dans le tableau IV. Ils montrent que cette

TABLEAU IV

HYDRATE DE CHLORAL

N° de l'expérience	Dose	Jours de mesure	Nombre de racines	Accroissement de longueur (en mm)		Pourcentage d'accroissement Chloral / Témoins
				Témoins	Chloral	
9	1/200	1	30	3,7	0	0
		5		13	0	0
		8		18,8	0	0
9	1/500	1	30	3,7	0,8	21,6
		5		13	0,8	6,1
		8		18,8	0,8	4,4
10	1/1000	1	35	9,6	0,96	10
		5		27,7	2	7,2
		8		38,8	2	5,1
		15		65,6	2,2	3,3
9	1/2000	1	34	3,7	1,2	32,4
		5		13	2,0	1,5
		8		18,8	2,4	1,2
10	1/2000	1	65	9,6	1,6	16,6
		5		27,7	5,1	18,4
		8		38,8	6,0	15,4
		15		65,6	6,4	9,7
10	1/5000	1	35	9,6	3,4	37,5
		5		27,7	13,7	49,8
		8		38,8	23,2	59,7
		15		65,6	45	68,6

substance est très toxique pour les racines d'Allium cepa, à peu près comme la colchicine à la dose de 1 p. 2.000. Sur l'embryon de Poulet, au contraire, alors que la concentration de 1 pour 10.000 est une dose léthale de colchicine, cette même concentration n'a aucun effet sur le développement de l'embryon de Poulet. D'après G. Ancel, la concentration de 1 pour 25 elle-même se montre d'une toxicité inférieure et pour obtenir l'effet de la dose de 1 pour 10.000 de colchicine, il faut déposer sur l'embryon, 5 gouttes de cette concentration à 1 p. 25.

La comparaison entre les effets de la colchicine et de l'hydrate de chloral résumée dans les tableaux est aussi mise en évidence par la figure 6 qui montre trois racines colchinisées et trois racines chloralisées. Ces racines étaient

Fig. 7. — A gauche, trois racines traitées pendant 15 jours par la colchicine à 1 p. 2000, à droite, trois racines traitées pendant le même temps par l'hydrate de chloral à 1 p. 2000. G X 2.

restées plongées pendant 15 jours, les unes dans une solution à 1 pour 2.000 de colchicine, les autres dans une solution d'hydrate de chloral à cette même concentration de 1 pour 2.000. On voit que toutes ces racines ont subi une hypertrophie dans leur partie subterminale, des radicelles sont apparues plus développées sur les racines placées dans l'hydrate de chloral que sur celles qui se sont développées dans la solution de colchicine. Ces deux lots de racines font partie de l'expérience 9, les tableaux montrent leur vitesse de croissance. La figure 7 montre la formation de cette tuméfaction.

Fig. 8. — Racines ayant séjourné pendant des temps différents dans une solution d'hydrate de chloral à 1 p. 2000, de droite à gauche: 1, 5, 8, 15 jours. G X 2.

D'une façon générale, il convient cependant de remarquer que la tubérisation ne se produit pas aussi régulièrement et aussi fortement pour le chloral que pour la colchicine et la ricine.

Dans les conditions expérimentales où je me suis placé, la tuméfaction des racines d'*Allium cepa* peut donc être obtenue non seulement par la colchicine et

la ricine, mais aussi par l'hydrate de chloral, le pouvoir tuméfiant commun à la colchicine et à la ricine ne marche donc pas de pair avec le pouvoir tératogène strophosomique sur l'embryon de Poulet, puisque l'hydrate de chloral à aucune dose ne donne de monstres strophosomes.

B. — Action sur la structure cellulaire.

Les modifications déterminées par la colchicine dans la structure cellulaire des végétaux sont bien connues, ainsi que je l'ai rappelé dans un précédent chapitre, mais pour mieux me rendre compte des différences qui pouvaient exister entre l'action de la ricine et celle de la colchicine, j'ai étudié sur coupes, des racines colchicinisées comparativement avec des racines ricinisées. Les expériences ont été faites sur Allium cepa dans les conditions précédemment décrites. La solution de colchicine utilisée était à 1 pour 2.000 et la ricine à 1 p. 500, cette ricine étant de la *ricine a*. Des racines ont été prélevées après 24 heures, 5 jours, 8 jours et 15 jours de séjour dans les solutions toxiques.

Après 24 heures de séjour dans la solution de colchicine, j'ai observé que comparativement aux témoins, le nombre des prophases avait considérablement diminué, tandis que celui des métaphases avait beaucoup augmenté. C'est ainsi, par exemple, que j'ai trouvé en moyenne pour un témoin 22 prophases pour 10 métaphases, tandis que la racine colchicinisée présentait une moyenne de prophases de 5 pour une moyenne de métaphases de 20. Ces résultats amènent à penser que la colchicine arrête les mitoses en métaphase comme l'admettent tous les auteurs et qu'elle ralentit la mitose. Cette dernière conclusion est en opposition avec l'opinion de Dustin qui considère la colchicine comme une substance excitatrice de la mitose, mais elle est d'accord avec celle à laquelle sont arrivés divers auteurs à la suite de recherches faites sur des végétaux et des animaux. On rencontre aussi dans les préparations quelques noyaux bourgeonnants, mais c'est après 5 jours de développement dans la solution de colchicine que nous avons commencé à observer dans leur plénitude les modifications structurales dues à l'alcaloïde. Les coupes faites dans les parties tuméfiées de la racine montrent des cellules très volumineuses avec de gros noyaux. La tuméfaction paraît essentiellement due à cette augmentation de volume des cellules. Le

nombre des métaphases est resté sensiblement le même, mais celui des prophases a encore diminué. On trouve à ce moment de nombreux noyaux déformés, bourgeonnants, en haltères, rappelant des figures d'amitoses, certaines cellules renferment deux noyaux. Le nombre des chromosomes a aussi très considérablement augmenté, ils apparaissent plus petits que dans les mitoses normales.

Après 8 jours de développement dans la solution de colchicine, les prophases ont à peu près complètement disparu, tandis que les métaphases sont toujours aussi nombreuses. Tous les noyaux sont déformés et on observe beaucoup de cellules multinucléées, le nombre des chromosomes est considérable. Les lésions restent en somme les mêmes, mais sont plus étendues.

L'étude des racines ayant séjourné 15 jours dans la solution de colchicine montre qu'à ce moment toutes les mitoses ont disparu, tous les noyaux sont déformés et de nombreuses cellules en renferment deux, trois ou quatre.

L'étude comparative que nous avons faite avec la ricine nous a donné des résultats très différents. A aucun stade, nous n'avons observé de modifications du noyau. La ricine a amené une tuméfaction de la racine analogue a celle qu'à produite la colchicine ; cette tuméfaction paraît due comme celle de la colchicine à une augmentation de volume des cellules et aussi, à un moindre degré, à une légère augmentation du nombre des cellules. Mais aucune modification de la structure nucléaire n'a été observée, pas de noyaux déformés, bourgeonnants, pas de figures d'amitoses, pas d'augmentation du nombre des chromosomes. Nous n'avons même pas constaté l'arrêt des mitoses en métaphase. Nous avons, en effet, obtenu les résultats suivants en comptant les prophases et les métaphases. Après 24 heures de séjour comme après 5 jours et 8 jours, le nombre des prophases s'est toujours montré supérieur à celui des métaphases. Après 15 jours, les mitoses ont à peu près complètement disparu.

La ricine paraît donc agir uniquement en ralentissant le développement, ce qui se traduit sur coupes par une diminution du nombre des mitoses et ultérieurement par leur complète disparition, sans modifications de la caryocinèse.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Le but de ce travail était d'apporter une contribution à la recherche des propriétés nécessaires à une substance chimique pour pouvoir produire la strophosomie chez l'embryon de Poulet. La première question qui se pose est de savoir comment agissent les substances capables de produire cette monstruosité (colchicine et ricine). P. Ancel et Mme Lallemand ont observé que, 24 heures après injection de ces substances à dose suffisante, la plupart des embryons présentent des courbures anormales du corps et qu'un certain nombre parmi eux deviennent strophosomes. Pour que cette monstruosité se réalise, il est nécessaire que se produise une lordose assez intense pour rejeter sur le dos la partie caudale du corps et amener une célosomie totale. L'examen journalier des embryons en évolution montre que cette condition est suffisante. A quoi est due cette lordose ? Au stade de 48 heures auquel est faite l'injection de colchicine ou de ricine, l'extrémité caudale de l'embryon est dans le prolongement du corps ; normalement vers la 65e heure, l'extrémité caudale se recourbe sous le ventre, tandis que chez les strophosomes, elle se recourbe sur le dos. Il est vraisemblable que la courbure de l'extrémité caudale est due à une différence d'accroissement entre les parties dorsales et ventrales de l'embryon. La colchicine et la ricine amènent dans l'embryon des lésions qui sont particulièrement intenses sur les parties dorsales de la région caudale ; ces lésions en arrêtant temporairement le développement des parties qu'elles affectent sont probablement la cause immédiate de la monstruosité. L'embryon anormalement courbé se développe, en effet, comme un embryon normal dans ses différentes parties et il n'y a que les rapports de ces parties entre elles qui sont changées.

La production de la strophosomie paraît en somme résider dans un arrêt de développement temporaire localisé à une région embryonnaire. Cette hypothèse est en accord avec de nombreux faits de tératogénèse. La plupart des malformations sont, en effet, dues à des arrêts de développement définitifs ou temporaires de diverses régions embryonnaires. E. Wolff en a donné la preuve en produisant à volonté, par simple destruction avec les rayons X de régions bien limitées dans les jeunes stades embryonnaires, de nombreuses malformations qu'on rencontre à l'état spontané chez l'embryon de Poulet. P. Ancel et Mme Lallemand ont montré que certaines substances chimiques peuvent porter électivement leur action sur une région de l'embryon de Poulet au stade de 48 heures d'incubation ; c'est ainsi qu'ils ont pu obtenir, par exemple, l'atrophie et même l'absence du bourgeon caudal avec des arsenicaux, des malformations des membres avec la tochlorine, la saponine et le cacodylate de soude, sans apporter aucun autre trouble visible dans le développement des embryons traités.

Il existe donc chez le Poulet au stade de 48 heures, disent P. Ancel et Mme Lallemand, une région embryonnaire électivement sensible à certaines substances chimiques, la région sensible variant avec la substance utilisée et sa lésion déterminant, avec une dose appropriée, l'apparition d'une malformation localisée dans un organisme normalement développé. »

En ce qui concerne la strophosomie, le problème paraît donc se poser de la façon suivante : Pour quelle raison un groupe cellulaire de l'embryon présente-t-il une sensibilité élective pour la colchicine et la ricine ? L'étude comparée dont j'ai exposé les résultats dans ce travail ne permet pas de répondre à cette question.

A un moment où P. Ancel et Mme Lallemand n'avaient pas encore découvert les propriétés tératogènes strophosomiques de la ricine, G. Ancel a montré que l'action de la colchicine n'était pas due à son pouvoir caryoclasique, puisque d'autres corps caryoclasiques ne produisent pas la strophosomie, et Aziz Awad n'a pu démontrer que la présence du noyau phénanthrène était la cause cherchée, puisqu'il est arrivé à cette conclusion que le phénanthrène et diverses substances à noyau phénanthrène ne donnent pas naissance à des strophosomes.

Le fait que la ricine a le même pouvoir que la colchicine de donner naissance à des strophosomes montre

qu'une même région embryonnaire peut être électivement sensible à des corps très différents par leur constitution chimique, leurs propriétés physiologiques et leur action sur les cellules ; et le fait que ces deux substances soient les seules parmi une cinquantaine qui provoquent la strophosomie montre que cette propriété commune n'est pas due à une cause banale comme la puissance toxique.

Les différences qui existent entre ces deux corps ont été mises en évidence au cours de ce travail. Au point de vue chimique, s'il ne reste plus guère de doute sur la constitution de la colchicine, la formule de la ricine est encore inconnue, mais l'existence d'une différence fondamentale entre ces deux corps a été démontrée, puisqu'elle a permis de ranger la colchicine parmi les alcaloïdes et la ricine parmi les toxalbumines. Au point de vue pharmacodynamique, la différence essentielle entre ces deux substances se manifeste par leur action sur le sang, le pouvoir d'agglutination de la ricine faisant défaut à la colchicine. Enfin, sur les cellules végétales, la ricine ne possède à aucun degré l'action si nette et si profonde de la colchicine sur le noyau et plus particulièrement sur la caryocinèse.

Les ressemblances consistent d'abord dans leur grande toxicité. Ce sont, en effet, les deux corps les plus toxiques qui aient été expérimentés par P. Ancel et Mme Lallemand. On doit ensuite remarquer que la colchicine et la ricine sont des poisons à action lente. La cause de leur action tératogène commune est-elle due à ces ressemblances, c'est ce que des recherches ultérieures permettront de savoir.

Le problème de tératogénèse que pose la production de la strophosomie par la colchicine et la ricine paraît en somme se ramener à un problème analogue à celui qui se pose en chimiothérapie. La lésion d'une région embryonnaire produite électivement par une substance chimique, lésion cause de la malformation, est, en effet, à rapprocher de la lésion électivement produite sur certains organismes parasites internes de l'homme par différents médicaments. Dans un cas comme dans l'autre, on peut voir des substances à constitutions chimiques très différentes présenter la même toxicité cellulaire élective. La réalisation de la strophosomie par la colchicine et la ricine n'est qu'un exemple de ce fait qui n'a pas encore reçu jusqu'ici d'explication satisfaisante. Il est logique de penser que la réalisation des malformations par des substances chimiques pourra apporter au même titre que la chimiothérapie les faits indispensables pour la découvrir.

BIBLIOGRAPHIE

AGULHON H. — « Recherche de la ricine (toxine et agglutinine) dans les différentes espèces et variétés de Ricin ». *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1914, t. 28, p. 819.

AGULHON H. — « Sur le sort à la ricine (toxine et agglutinine) pendant la germination des graines de Ricin ». *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1915, t. 29, p. 237.

ALILAIRE E. — « Hypersensibilité à la Ricine ». *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1914, t. 28, p. 605.

ALLEN. — « Growth of tissues in response to ovarian follicular hormone and associated experiment's ». Les hormones sexuelles, Paris 1938.

ANCEL Gilbert. — « Recherches sur l'action tératogène comparée de la colchicine et d'autres substances chimiques sur l'embryon de poulet ». *Thèse Doctorat en Pharmacie*, Strasbourg, mars 1940.

ANCEL P. et LALLEMAND (Mme S.). — « Sur la tératogènie de la strophosomie expérimentale chez le poulet ». *C.R. Soc. Biol.*, 1939, t. CXXX, p. 385.

ANCEL P. et LALLEMAND (Mme S.). — « Sur le diagnostic précoce de la strophosomie d'origine colchicinique chez l'embryon de poulet ». *C.R. Soc. Biol.*, 1939, t. CXXX, p. 1936.

ANCEL P. et LALLEMAND (Mme S.). — « Sur la réalisation au moyen de la colchicine d'embryons de poulet célosomiens. *C.R. Soc. Biol.*, 1939, t. CXXX, p. 1399.

ANCEL P. et LALLEMAND (Mme S.). — « Sur la production de monstres strophosomes par la ricine ». *Archives physique biologique*, 1940, t. 15, nº 40.

ANCEL P. et LALLEMAND (Mme S.). — « Sur les malformations obtenues chez l'embryon de poulet à l'aide de substances chimiques ». *Archives de Phys. biol.*, 1940, t. 15, nº 40.

ANCEL P. et LALLEMAND (Mme S.). — « Sur la réalisation de poulets célosomiens à l'aide de fortes températures d'incubation ». *Archives de Phys. biol.*, 1940, t. 15, nº 41

ANCEL P. et LALLEMAND (Mme S.). — « Action de divers alcaloïdes sur le développement de l'embryon de poulet ». *Archives de Phys. biol.*, 1940-41, t. 15, nº 42.

Ancel P. et Lallemand (Mme S.). — « Sur l'arrêt de développement du bourgeon caudal obtenue xpérimentalement chez l'embryon de poulet ». *Archives Phys. biol.*, 1940-41, t. 15, nº 43.

Ancel P. et Lallemand (Mme S.). — « Sur la sensibilité des ébauches des membres à certaines substances chimiques ». *Archives de Phys. biol.*, 1940-41, t. 15, nº 44.

Arvy L. — « Les effets biologiques de la colchicine ». *Revue Sc.* (revue rose illustrée), nº 3, mars 1940, p. 153.

Awad Aziz. — « Recherches sur l'action tératogène des substances à noyau phénanthrène ». *Thèse de Doctorat en Pharmacie*, Strasbourg, mai 1940.

Barnard J.-H. — *Journ. of Allergy*, 1930, t. I, p. 473.

Bastenie et Zylberszac. — « Mise en évidence de stimulations hormonales par la colchicine. Détection de stimulation thyroïdienne par l'extrait antéhypophysaire ». *C.R. Soc. Biol.*, 1937, t. 126, p. 446.

Beams et King. — *Biol. Bull.*, 1938, t. 75, p. 189.

Blakeslee and Avery. — *Journal of Heredity*, 1937, t. 28, p. 393-411.

Blakeslee A.-F., Avery A.-G. ,Bergner A.-D., Satina S., Warmke H.-E., Buchholz J.-T., Conklin M.-E. and Sinnote W. — « Chromosome investigation ». *Annual report of the chairman of the division of animal biology.* Carnegie Institution of Washington. Year book 1939, p. 181-185.

Blakeslee A.-F. — « Dédoublement du nombre de chromosomes chez les plantes par traitement chimique. » *C.R. Ac. Sc.* 1937, t. 205, p. 476.

Blakeslee A.-F. — *Journal of Heredity*, 1938, t. 29, p. 3-9.

Boquet P. — « Atténuation de la ricine par le peroxyde d'hydrogène en présence de quantités infinitésimales de cuivre ». *C.R. Soc. Biol.*, 1939, t. 132, p. 418.

Boyland E. and Boyland M.-E. — « Action of colchicine and B. typhosus extract ». *Biochem. Journal*, 1937, t. 31, p. 454-460.

Braun K. et Behrend E. — « Pouvoir saponifiant de la ricine ». *Soc. Chim. de France*, 1905, t. 34, p. 565 et *Deutsch. chem. Gesellsch.*, t. 36, p. 1900-1911.

Bredenbeck W. — « Beiträge zur Kenntnis des colchicins ». *Inaugural Dissertation*, 1928, Göttingen.

Brioux C. et Guerbet. — « Les tourteaux accidentellement ricinés. Recherche du ricin par le microscope et par la réaction des agglutinines ». *Ann. fals. et fr.*, 1920, t. 13, p. 150. *Journal de Pharmacie*, 1920, t. 22, p. 394.

Brues A.-M. and Cohen A. — « Effects of colchicine and related substances on cell division ». *Biochem. Journal*, 1936, t. 30, p. 1363-1368.

Bureau et Vilter. — « La colchicine doit-elle être considérée comme un stimulant de la division cellulaire ? » *C.R. Soc. Biol.*, t. CXXXII, p. 358, 1939.

Bursian K. — « Uber das colchicin ». *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, 1938, t. 71, p. 245-257.

Carmichael E.-B. — *The Journal of Pharm. and experim. Ther.*, 1929, t. 35, p. 193.

Clearkin P.-A. — *Journ. Pathol. Bactériology*, 1937, t. 44, p. 469-480.

Cruz G. — *Ann. d'hygiène publique*, 1898, t. 40, p. 350.

Dixon et Malden. — *Journal of Physiol.*, 1908, t. 37, p. 50-76.

Dodel P. et Dastugue G. — « Influence de la colchicine sur la croissance des larves d'amphibiens. *Clermont Médical*, 1989, n° 63, p. 31.

Dustin A.-P., Havas L. et Lits F. — *C.R. Association des Anatomistes*, 32e réunion, Marseille, 1937, p. 177.

Dustin A.-P. — « Nouvelles applications caryoclasiques à la pathologie expérimentale à l'endocrinologie et à la cancérologie ». *Le Sang*, 1938, t. 12, p. 677-697.

Ehrlich. — *Deutsch. Médiz. Wochenschrift.*, 1891.

Fleischmann W. et Kahn S. — « La colchicine, moyen d'étude des processus de croissance d'origine hormonale ». *Biochem. Zeits.* 1938, t. 296, p. 373-382.

Fuhner et Breipohl W. — « Temperatur und Giftempfindlichkeit ». *Naunyn Schmiedebergs. Archiv. für experimentelle Pathologie*.

Garrigues R. — « Action de la colchicine et du chloral sur les racines de Vicia Faba ». *C.R. Ac. Sc.* 1939, t. 208, p. 461.

Gavaudan N. et P. — « Comparaison du mode d'action de quelques substances inhibitrices de la caryocinèse ». *C.R. Soc. Biol.*, 1939, t. 130, p. 432.

Gavaudan P. et N. — « Modification numériques et morphologiques des chromosomes, induites chez les végétaux par l'action de la colchicine ». *C.R. Soc. Biol.*, 1937, t. 126, p. 985.

Gavaudan P. et N. — « Mécanisme d'action de la colchicine sur la caryocinèse des végétaux ». *C.R. Soc. Biol.*, 1938, t. 128, p. 714.

Gavaudan P. — « Sur les tissus à constitution mixte diploïde et polyploïde développés chez les végétaux par action de la colchicine ». *C.R. Soc. Biol.*, 1938, t. 128, p. 717.

Gavaudan N. et P. et Durand J. — « Sur la similitude d'action de l'acénaphtène et de la colchicine dans l'inhibition de la caryocinèse ». *C.R. Soc. Biol.*, 1938, t. 129, p. 559.

Geiger et Hesse. — *Lieb. An.*, 1833, t. 7, p. 274.

Grabar P. et A. Koutseff. — « Différenciation, dans le ricin, de la toxine (Ricine) et d'un allergène ». *C.R. Soc. Biol.*, 1934, t. 117, p. 700.

GRABAR P., et A. KOUTSEFF. — « Sur la préparation du ricinallergène et sa séparation de la ricine ». *C.R. Soc. Biol.*, 1934, t. 117, p. 702.

GUEST. — « Recherche sur l'agglutination des globules rouges de chèvre par la ricine ». *C.R. Soc. Biol.*, 1925 t. 92, p. 1122.

GURTL. — « Lehrbuch der pathologischen Anatomie ». Berlin, 1832.

HEYMANS MARIA. — « L'immunisation par la ricine formolée ». *Arch. internationales de pharmacodynamie et de thérapie*, 1926. Volume 32, fascicule I-II, p. 101.

JACOBJ C. — « Pharmakologische Untersuchung über das Colchicumgift ». *Archiv. für exp. Path. u. Pharmak.*, 1890, t. 27, p. 125.

JACOBY M. — Ricin, Abrin, Crotin. *Handb. d. exp. Pharm.*, 1924, t. 2, p. 1735.

JOLLY. — « Mémoire sur deux genres nouveaux de monstres célosomiens que l'auteur propose de désigner sous les noms de Chélonisome et Strophosome ». *Ann. d. Sc. nat.*, 3e série, *Zoologie*, 1845, t. 3, p. 374.

KARRER P., SMIRNOFF A.-P., EHRENSPRENGER H., J. Van SLOOTEN et M. KELLER. — « Uber Toxine. Zur Kenntnis des Ricins ». *Zeit. physiol. Chemie*, 1924, t. 135, p. 129-166.

KOBERT R. — Lehrbuch der Intoxikationen, 1906.

KOSTOFF D. — *Nature*, 1938, t. 142, p. 753.

LALLEMAND (Mme S.). — « Réalisation à l'aide de la colchicine de Poulets strophosomes ». *C.R. Acad. Sc.*, 1938, t. 207, p. 1446.

LALLEMAND (Mme S.). — « Action de la colchicine sur l'embryon de Poulet à divers stades du développement ». *C.R. Acad. Sc.*, 1939, t. 208, p. 1048.

LALLEMAND (Mme S.). — « La strophosomie chez l'embryon de Poulet. Réaction tératogène de la colchicine ». *Arch. d'Anatomie, d'Histologie et d'Embryologie*, 1940.

LAUNOY L. — « Action antitryptique du sérum sanguin chez les lapins intoxiqués par la ricine ». *C.R. Soc. Biol.*, 1911, t. 70, p. 367.

LEFÈVRE J. — « Similitude des actions cytologiques exercées par le phényluréthane et la colchicine sur des plantules végétales ». *C.R. Ac. Sc.* 1939, t. 208, p. 301.

LEVADITI C. et ST. MUTERMILCH. — « Action de la ricine sur la vie et la multiplication des cellules *in vitro* ». *C.R. Soc. Biol.*, 1913, t. 74, p. 611.

LEVAN. — *Hereditas*, 1938, t. 24, p. 471 ; *Hereditas*, 1939, t. 25, p. 87-96.

LITS F. — « Contribution à l'étude des réactions cellulaires provoquées par la colchicine ». *C.R. Soc. Biol.*, 1934, t. 115, p. 1421,

Ludford R.-J. — *Arch. exp. Zellforsch.*, 1936, t. 18, p. 411-441.

Machebœuf M. — « Les phytotoxines ». *Bull. Sc. pharmac.*, 1929, t. 36, p. 237-252.

Mangenot G. — « L'action de la colchicine sur les cellules végétales ». *C.R. Ac. Sc.*, 1939, t. 208, p. 222.

Mangenot G. — « Hypertrophies des racines par la colchicine chez quelques plantes ». *C.R. Soc. Biol.*, 1938, t. 128, p. 565.

Mangenot G. — « Effets de la colchicine sur la mitose dans les racines d'Allium Cepa et d'Hyacinthus orientalis. » *C.R., Soc. Biol.*, 1938, t. 128, p. 501.

Mangenot G. — « Ebauches radicellaires et colchicine ». *C.R., Ac. Sc.*, 1939, t. 208, p. 1105.

Marie A. « Action de l'adrénaline sur les toxines végétales ». *Soc. Chim. de France*, 1919, t. 25, p. 397.

Michaelis L. et Steindorff. — « Ueber die Wirkung des Rizins auf Serum und Organzellen *in vitro* ». *Bioch. Zeitschr.*, 1907, p. 43.

Nicolle et Césari E. — « Intoxication ricinique chez le cobaye ». *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1913, t. 27, p. 358.

Olmer D. et A. Sauvan. — « Action *in vitro* sur le sang des solutions d'abrine et de ricine chauffées ». *C.R. Soc. Biol.*, 1910, t. 68, p. 638.

Olmer D. et A. Sauvan. — « Action *in vitro* sur le sang des solutions d'abrine et de ricine, en présence de lécithine ». *C.R. Soc. Biol.*, 1910, t. 68, p. 639.

Osborne Th.-B., Mendel L.-B. and Harris J.-F. — *Américc. Journ. of Physiol.*, 1905, t. 14, p. 259.

Paff G.-H. — « The action of colchicine on 48 hours chick embryo ». *The American Jour. of Anatomy*, 1938, t. 64, p. 331.

Pascucci O. — « Action de la ricine sur la lécithine ». *Soc. Chim. de France*, 1906, t. 36, p. 544 et *Beitr. Chem. Physiol. u. Pathol.*, 1905, t. 7, p. 457.

Pelletier et Caventou. — *An. Ch. Phys.* 1820, t. 14, p. 82.

Perrot E. *C.R. Ac. Sc.*, 1936, t. 202, p. 1088.

Pfeffer W. — Physiologie végétale, 1912, Paris, Steinheil.

Ramon G. et Richou R. — « Sur le mécanisme de l'immunité antitoxique naturellement acquise. Nouvelle démonstration portant sur l'immunité antiricinique ». *C.R. Soc. Biol.*, 1936, t. 123, p. 738.

Ratner B. — *Journ. of Allergy*, 1930, t. 2, p. 1.

Rehns J. « Essais sur les toxalbumines végétales (Abrine et Ricine) ». *C.R. Soc. Biol.*, 1902, t. 54, p. 212.

Rona P. et Gyorgy. — « De l'action des électrolytes sur l'hémagglutination à la ricine ». *Soc. Chim. de France*, 1921, t. 30, p. 1563 et *Biochem. Zeitschr.*, 1920, t. 105, p. 120.

SANTAVY F. — « Les variations sanguines au cours de l'intoxication par la colchicine ». *C.R. Soc. Biol.* 1937, t. 126, p. 629.

SCHULER H. — « Analogie des propriétés physico-chimiques entre la colchicine et les carbures cancérigènes ». *Archives physique biologique*, 1940, t. XV, n° 40 et *C.R. Ac. Sc.*, 1940, t. 220, p. 400.

SIMONNET M. et DANSEREAU P. — « Sur plusieurs mutations tétraploïdes de Pétunia apparues après traitement à la colchicine ». *C.R. Ac. Sc.*, 1938, t. 206, p. 1832.

SIMONNET M., CHOPINET R. et SOUILIJAERT G. — « Sur l'obtention d'un Linim usitatissimum L. tétraploïde après application de Colchicine ». *C.R. Ac. Sc.*, 1938, t. 207, p. 85.

SIMONNET M. — « Sur l'hérédité des mutations tétraploïdes de Pétunia obtenues après application de colchicine ». *C.R. Ac. Sc.*, 1938, t. 207, p. 1126.

STASSANO H. — « Ricine, recherche dans les tissus ». *C.R. Ac. Sc.*, 1900, t. 131, p. 72.

STEPANOFF M.-A. — « Etudes sur la ricine et l'antiricine ». *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1896, t. 10, p. 663.

STILLMARK H. — *Arbeiten des pharmakologischen Instituts Zu Dorpat*, 1889, p. 59.

TAPPEINER H.-V. — « Actions des substances fluorescentes sur la ricine ». *Soc. Chim. de France*, 1905, t. 34, p. 561 et *Deutsch. chem. Gesellsch.*, t. 36, p. 3035.

TRUCHE Ch. — « Etude sur la ricine. Préparation des sérums antitoxiques ; leur activité ». *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1913, t. 27, p. 226.

TSUCHIHASI. — « L'action du cuivre métallique sur la ricine ». *Soc. Chim. de France*, 1924, t. 36, p. 1827 et *Bioch. Zeitch.*, 1923, t. 140, p. 140-148.

WILLSTATTER. — *Chem. Ber.*, 1921, t. 54, p. 2988.

WINDAUS. — *Lieb. Ann.*, 1924, t. 439, p. 69.

WOLFF Etienne. — « Les bases de la tératogénèse expérimentale des vertébrés amniotes d'après les résultats de méthodes directes ». *Arch. d'Anat. d'Histol. et d'Embryol.*, 1936, t. 23, p. 1 et *Thèse de Doctorat Sciences*, Strasbourg, 1936.

WOLLMER Hubert. — « Tiergrösse und Empfindlichkeit gegen Hydrochinon und Colchicin ». *Naunyn Schmiedebergs Arch. für experimentelle Pathologie*, 1932, t. 165, p. 339-349.

WORINGER P., GRABAR P. et A. KOUTSEFF. — « Etude physiopathologique de l'Allergie du Ricin ». *C.R, Soc. Biol.*, 1935, t. 118, p. 60.

ZEISEL. — « Uber das colchicin ». *Wiener Monatshefte für Chemie*, 1886, t. 7, p. 557 et 1888, t. 9, p. 1.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION 7

PREMIÈRE PARTIE. — Réalisation de la strophosomie par la colchicine et la ricine chez l'embryon de Poulet 9

*Chapitre I*er. — Réalisation de la strophosomie à l'aide de la colchicine 11

Chapitre II. — Réalisation de la strophosomie à l'aide de la ricine 16

DEUXIÈME PARTIE. — Etude chimique 18

*Chapitre I*er. — Colchicine 18
A) Constitution 18
B) Préparation 20
C) Propriétés 21

Chapitre II. — Ricine 23
A) Constitution 23
B) Préparation 24
C) Propriétés 27

TROISIÈME PARTIE. — Etude pharmacodynamique 29

*Chapitre I*er. — Colchicine 29
A) Etude de l'action de la colchicine sur les animaux 29
a) Toxicité 29
b) Action sur les tissus 30
c) Action sur les cellules 31
d) Utilisation de la colchicine en thérapeutique et en biologie 34

B) Etude de l'action de la colchicine sur les végétaux. 35
a) Macroscopie. 35
b) Microscopie. 37

Chapitre II. — Ricine. 41
A) Etude de l'action de la ricine sur les animaux. 41
a) Toxicité. 41
b) Action sur les tissus. 44
c) Action sur les cellules. 46

B) Etude de l'action de la ricine sur les végétaux. 47

Quatrième partie. — Comparaison entre les effets de la colchicine et ceux de la ricine sur les animaux et les végétaux 48

*Chapitre I*er. — Action de la colchicine et de la ricine sur les animaux. 48
A) Toxicité. 48
B) Action tératogène. 50
C) Action sur les tissus et les cellules. 51

Chapitre II. — Action de la colchicine et de la ricine sur les végétaux. 53
A) Effets sur la croissance. 53
a) Technique. 53
b) Action sur la vitesse de croissance de la racine. 55
c) Action tuméfiante sur la racine 58
d) Action de l'hydrate de chloral. 61

B) Action sur la structure cellulaire 65

Conclusions générales. 67

Index bibliographique. 70

Vu, Clermont-Ferrand, le 18 Mars 1941.

Le Président du Jury,

A. SARTORY.

Vu et approuvé :

Clermont-Ferrand, le 23 Avril 1941.

Le Doyen de la Faculté de Pharmacie,

A. SARTORY.

Vu et permis d'imprimer :

Clermont-Ferrand, le 26 avril 1941,

Le Recteur de l'Académie,
Président du Conseil de l'Université,

Pour le Recteur :
Le Vice-Président du Conseil de l'Université :

A. DANJON.

Imp. Générale, 2, Cours Sablon, Clermont-Fd